



TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

En vista de la obtención del grado de
LICENCIATURA EN ODONTOLOGÍA

Otorgado por
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Presentado y defendido por

Natalia González Sánchez

Alejandra Hidalgo Díaz

Nicole Jensen Líos

María Fernanda Velásquez Marín

El día de

16 de diciembre del año 2021

**“Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la
creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos
obtenidos con Micro-CT Scan”**

Comité Asesor

Jorge Oviedo Quirós (Director)

Diana Hernández Montoya (Asesora)

Esteban Campos Zumbado (Asesor)

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio Brenes, San José, Costa Rica



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

FOd Facultad de
Odontología

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SEDE RODRIGO FACIO BRENES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Acta de Defensa Pública, modalidad Seminario de Graduación

Se informa que la estudiante **Hidalgo Díaz Alejandra**, carné No. **B53513**, postulante a obtener el grado de Licenciatura en Odontología, ha realizado la Defensa Pública de su Trabajo Final de Investigación titulado: *"Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con MicroCT Scan"* el día **16 de diciembre de 2021**.

El resultado de dicha defensa fue:

Aprobado X

No aprobado

Se le concede aprobación con distinción

Nombre	Firma	No. Cédula
Hidalgo Díaz Alejandra Sustentante		<u>504140241</u>
TRIBUNAL EXAMINADOR		
Dr. Jorge Oviedo Quirós Director		<u>1-1021-0074</u>
MATIE. Diana Hernández Montoya Asesora		<u>1-979-150</u>
Bach. Esteban Campos Zumbado Asesor		<u>206560565</u>
Dra. Gina Murillo Knudsen Representante Externa		<u>105100332</u>
Dr. Carlos Filloy Esna Decano		<u>103901022</u>



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA SEDE RODRIGO FACIO BRENES FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Acta de Defensa Pública, modalidad Seminario de Graduación

Se informa que la estudiante Velásquez Marín María Fernanda, carné No. B57743, postulante a obtener el grado de Licenciatura en Odontología, ha realizado la Defensa Pública de su Trabajo Final de Investigación titulado: "Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con MicroCT Scan" el día 16 de diciembre de 2021.

El resultado de dicha defensa fue:

Aprobado

No aprobado

Se le concede aprobación con distinción

Nombre	Firma	No. Cédula
Velásquez Marín María Fernanda Sustentante		305000971
TRIBUNAL EXAMINADOR		
Dr. Jorge Oviedo Quirós Director		1-1021-00709
MATIE. Diana Hernández Montoya Asesora		1-979-150
Bach. Esteban Campos Zumbado Asesor		206560565
Dra. Gina Murillo Knudsen Representante Externa		105100332
Dr. Carlos Filloy Esna Decano		103901020

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SEDE RODRIGO FACIO BRENES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Acta de Defensa Pública, modalidad Seminario de Graduación







Se informa que la estudiante **Jensen Líos Nicole**, carné No. **B43502**, postulante a obtener el grado de Licenciatura en Odontología, ha realizado la Defensa Pública de su Trabajo Final de Investigación titulado: **"Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con MicroCT Scan"** el día **16 de diciembre de 2021**.

El resultado de dicha defensa fue:

Aprobado

No aprobado

Se le concede aprobación con distinción

Nombre	Firma	No. Cédula
Jensen Líos Nicole Sustentante		116470353
TRIBUNAL EXAMINADOR		
Dr. Jorge Oviedo Quirós Director		1-1021-0079
MATIE. Diana Hernández Montoya Asesora		1-979-150
Bach. Esteban Campos Zumbado Asesor		2 0656 0565
Dra. Gina Murillo Knudsen Representante Externa		10510 0332
Dr. Carlos Filloy Esna Decano		103901020



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SEDE RODRIGO FACIO BRENES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Acta de Defensa Pública, modalidad Seminario de Graduación

Se informa que la estudiante **González Sánchez Natalia María**, carné No. **B43026**, postulante a obtener el grado de Licenciatura en Odontología, ha realizado la Defensa Pública de su Trabajo Final de Investigación titulado: *"Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con MicroCT Scan"* el día **05 de julio de 2022**.

El resultado de dicha defensa fue:

Aprobado _____

No aprobado _____

Se le concede aprobación con distinción

X

Nombre

Firma

No. Cédula

González Sánchez Natalia María

Sustentante

Natalia González

116350562

TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. Jorge Oviedo Quirós
Director

[Signature]

1-1021-0079

MATIE. Diana Hernández Montoya
Asesora

[Signature]

1-999-150

Bach. Esteban Campos Zumbado
Asesor

[Signature]

208560565

Dra. Olga Marta Murillo Bolaños
Representante Externa

[Signature]

400980235

Dr. Carlos Filloy Esna
Decano

[Signature]

103901020

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedicamos principalmente a Dios, por ser el inspirador y darnos fuerza para culminar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, nuestra carrera profesional.

A nuestros padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que somos hoy.

A todas las personas que nos han apoyado y colaborado, ya que esto nos ha permitido que este trabajo se haya realizado con éxito. En especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

HOJA DE REVISIÓN POR LA FILÓLOGA

San José, 1 de diciembre del 2021.

Director (a) de la Escuela de Odontología, UCR.

Estimado (a) señor Director (a):

Por este medio yo, Maribel Mora Zamora, mayor, divorciada, filóloga, incorporada al Colegio de Licenciados y Profesores, con el número de carné 41215, vecina de Los Ángeles de San Rafael de Heredia, portadora de la cédula de identidad 109510130, hago constar:

1. Que he revisado el Trabajo Final de Graduación para optar por el grado académico de Licenciatura en Odontología denominado **Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan**, diciembre 2021.
2. Que el trabajo final de graduación es sustentado por las estudiantes Natalia González Sánchez, Alejandra Hidalgo Díaz, Nicole Jensen Líos y María Fernanda Velásquez Marín.
3. Que se le han hecho las correcciones pertinentes en acentuación, ortografía, puntuación, concordancia gramatical y otras del campo filológico.

En espera de que mi participación satisfaga los requerimientos de la Universidad de Costa Rica se suscribe atentamente


Maribel Mora Zamora

Bachiller en Filología Española

Carné No. 41215

Filólogo

ÍNDICE

HOJA DE APROBACIÓN DE LA MEMORIA PARA LA DEFENSA PÚBLICA	ii
DEDICATORIA	v
HOJA DE REVISIÓN POR LA FILÓLOGA	vi
ÍNDICE	vii
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xv
PREFACIO	1
PARTE I	3
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	3
CAPÍTULO 1	4
Revisa la literatura del uso y aplicaciones biomédicas del Micro-CT Scan, la técnica de impresión por deposición fundida	4
CAPÍTULO 2	10
Revisa la literatura sobre el campo de la ingeniería de tejido óseo	10
Actividad celular y procesos de remodelación ósea	10
Arquitectura y propiedades mecánicas del hueso	11
Injertos Óseos	12
CAPÍTULO 3	15
Revisa los materiales, estructura y propiedades mecánicas ideales de un bioandamiaje y las pruebas utilizadas para su análisis, posterior a su impresión 3D	15
Bioandamiajes a base de polímeros	15
Selección del material base	15
Propiedades de la superficie del bioandamiaje	18
Propiedades mecánicas de los bioandamiajes	18
PARTE II	22
ARTÍCULO CIENTÍFICO	22
RESUMEN	23
INTRODUCCIÓN	25
METODOLOGÍA	28
RESULTADOS	34
Detalle de la impresión	34

Pruebas de resistencia compresiva y módulo de elasticidad	38
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIÓN	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	51
ANEXO 1	51
ANEXO 2	53
ANEXO 3	54
ANEXO 4	58
ANEXO 5	61
ANEXO 6	63

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades mecánicas del hueso cortical y hueso esponjoso.....	12
Tabla 2. Propiedad de los bioandamiajes a base de ácido poliláctico.....	19
Tabla 3. Escala de inspección visual de las estructuras impresas con respecto al patrón en resina.....	32
Tabla 4. Distribución de muestra según material por detalle de la impresión 2021.....	34
Tabla 5. Observación de las estructuras impresas con el material 88C.....	35
Tabla 6. Observación de las estructuras impresas con el material 90B.....	35
Tabla 7. Observación de las estructuras impresas con el material PLA.....	36
Tabla 8. Muestras según material por porcentaje de logro 2021.....	37
Tabla 9. Resultados de la inspección y comparación visual con el patrón oro.....	38
Tabla 10. Resultados de las variables Fuerza (N), Resistencia compresiva (MPa) y Módulo de elasticidad (MPa), según muestra de material.....	38
Tabla 11. Resultados de la aplicación de la prueba de Jonckheere-Terpstra.....	39
Tabla 12. Composición de filamentos utilizados para la impresión de bioandamiajes.....	54
Tabla 13. Bitácora de actividades del proyecto final de graduación.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales componentes de un Micro-CT Scan.....	5
Figura 2. Pesaje de PLA puro.....	55
Figura 3. Pesaje de extracto diatomea.....	55
Figura 4. Pesaje de fosfato de calcio.....	56
Figura 5. Previo a proceso de agitación.....	56
Figura 6. Post proceso de agitación.....	56
Figura 7. Mezcla de filamento en reposo.....	56
Figura 8. Cortes horizontales de la mezcla de filamento.....	56
Figura 9. Recorte del material en fragmentos.....	56
Figura 10. Extrusión de filamentos.....	57
Figura 11. Estructuras impresas del filamento 88C.....	58
Figura 12. Estructuras impresas del filamento 90B.....	58
Figura 13. Patrón oro de resina.....	58
Figura 14. Estructuras impresas en PLA puro.....	58
Figura 15 . Imagen del microscopio del patrón oro de resina.....	59
Figura 16. Imagen de microscopio de estructura de PLA puro.....	59
Figura 17. Imagen de microscopio de estructura del filamento 88C.....	60
Figura 18. Imagen de microscopio de estructura del filamento 90B.....	60
Figura 19. Máquina de ensayo universal Instron.....	61
Figura 20. Componentes de la máquina de ensayo universal.....	61
Figura 21. Prueba mecánica a bioandamiaje.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

μCT: Micro-CT Scan

3D: tercera dimensión

FDM: impresión por deposición fundida (*Fused Deposition Modeling*)

PLA: ácido poliláctico

ABS: (acrilonitrilo butadieno estireno)

BMPs: proteínas morfogénicas del hueso

FGF: factor de crecimiento fibroblástico

PDGF: factores de crecimiento derivados de las plaquetas

VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial

PLC: policaprolactoa

PEEK: poliéter éter cetona

PLG: ácido poliglicólico

HA: hidroxiapatita

TCP: fosfato tricálcico

MPa: megapascal

GPa: gigapascal

SME: *Shape Memory Effect*

FDA: *Food and Drug Administration*

DICOM: Digital Imaging and Communications in Medicine

STL: StereoLithography

Proyecto FEES: Fondo Especial para la Educación Superior

SIBDI: Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información

COVID: coronavirus disease

LANOTEC: Laboratorio Nacional de Nanotecnología

CIMAR: Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología

UNED: Universidad Estatal a Distancia

RESUMEN

Objetivo: El propósito de esta investigación es determinar el biopolímero con las mejores características de impresión 3D y propiedades mecánicas para la fabricación de un andamiaje, utilizando la técnica de deposición fundida, con modelos estereolitográficos generados a partir de un Micro-CT Scan.

Metodología: La presente investigación es un estudio exploratorio experimental, cuya conceptualización y análisis requirió una revisión de literatura de artículos científicos. Se realizó la impresión 3D de un bioandamio a 150% del tamaño original, utilizando la técnica por deposición fundida, a partir de un archivo en formato STL que se obtiene de un Micro-CT Scan tomado a una estructura ósea de cresta ilíaca bovina. Se realizaron 3 grupos de estudio, con trece estructuras impresas cada uno. El primero, se compone 100% de PLA. El segundo, filamento 90B, se compone de 20g de ácido poliláctico por 1g de extracto de diatomea, y el tercero, filamento 88C, se diferencia de este último ya que contiene además, 1g de fosfato de calcio. A las 39 estructuras se les realizó una prueba de inspección visual, por lo que se requirió la confección de un patrón de oro en resina, con mayor detalle y similitud a la estructura ósea escaneada. Finalmente, las estructuras fueron sometidas a una fuerza compresiva (N) para la obtención del módulo de elasticidad (MPa) y de la resistencia compresiva (MPa) de cada una de ellas.

Resultados: Se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,001$) en las propiedades de impresión del biomaterial 88C, con respecto al 90B y al PLA puro. El filamento 88C presentó las mejores características de impresión 3D utilizando la técnica de impresión por deposición fundida, a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan. Además, el biopolímero 88C, presentó las mejores propiedades mecánicas en comparación con los otros grupos de materiales. Aunque la diferencia entre estos no fue estadísticamente significativa ($p=0,388$), en las estructuras del biomaterial 88C, se pudieron

observar valores de resistencia compresiva (8,84692 Mpa) y módulo de elasticidad (43,23615 Mpa) semejantes a los del hueso esponjoso de los maxilares.

Conclusión: El biomaterial que presentó las mejores características de impresión y mecánicas para elaborar un bioandamiaje mediante impresión 3D utilizando la técnica de deposición fundida a partir de modelos estereolitográficos generados a partir de Micro-CT Scan fue el filamento 88C, compuesto de 20g de ácido poliláctico, 1g de extracto de diatomea, y 1g de fosfato de calcio. A razón de este resultado, el 88C se convirtió en un material con potencial para ser utilizado en la fabricación de bioandamiajes en la ingeniería tisular.

Palabras clave: Bioandamiaje. PLA. Impresión 3D. FDM. Biomaterial. Defecto[AND]óseo. Diatomeas.Fosfato de Calcio.

ABSTRACT

Objective: The main objective is to analyze the biomaterial with the best 3D printing characteristics and mechanical properties of a scaffold, using the fused deposition modeling (FDM) technique, from stereolithographic models obtained from a Micro-CT Scan.

Methods: The present investigation is an experimental exploratory study. For the conceptualization and analysis, a literature review of scientific articles was carried out. A 3D printing of a bio-scaffold was made at 150% of the original size, using the fused deposition technique, from a file in STL format obtained from a Micro-CT Scan taken from a bovine iliac crest bone structure. Three study groups were carried out, with thirteen printed structures each. The first is made up of 100% PLA. The second, filament 90B, is composed of 20g of polylactic acid per 1g of diatom extract, and the third, filament 88C, differs from the latter as it also contains 1g of calcium phosphate. A visual inspection test was performed on the 39 structures, which required the preparation of a gold standard in resin, with greater detail and similarity to the scanned bone structure. Finally, the structures were subjected to a compressive force (N) to obtain the modulus of elasticity (MPa) and the compressive strength (MPa) of each one of them.

Results: A statistically significant difference ($p= 0.001$) was obtained in the printing properties of biomaterial 88C, with respect to 90B and pure PLA. The 88C filament presented the best 3D printing characteristics using the fused deposition printing technique, from stereolithographic models obtained with Micro-CT Scan. In addition, the 88C biopolymer presented the best mechanical properties compared to the other groups of materials. Although the difference between these was not statistically significant ($p = 0.388$), in the structures of the 88C biomaterial, values of compressive strength (8,84692 Mpa) and modulus of elasticity (43,23615 Mpa) similar to those of cancellous bone in the jaws could be observed.

Conclusions: The biomaterial that presented the best printing and mechanical characteristics to make a bio-scaffold by 3D printing using the fused deposition technique from stereolithographic models generated from Micro-CT Scan was the 88C filament, composed of 20g of polylactic acid, 1g of diatom extract, and 1g of calcium phosphate. Becoming a material with potential to be used in the manufacture of bio-scaffolds in tissue engineering.

Keywords: Bioscaffolds. PLA. 3D printing. FDM. Bone[and]defect. Diatoms. Calcium Phosphate.

PREFACIO

En el presente trabajo, se analizaron las características de impresión 3D y las propiedades mecánicas de bioandamiajes elaborados a partir de un biomaterial imprimible compuesto por diferentes proporciones de PLA y frústulas de diatomeas (impresos con la técnica de modelado por deposición fundida), esto con el propósito de determinar el material con mayor similitud a las propiedades del hueso esponjoso de los maxilares.

La primera parte, se plasmó a lo largo de tres capítulos con el fin de dar los fundamentos teóricos necesarios para una mejor comprensión de los resultados de la investigación, el primero de ellos resume la revisión de literatura del uso y aplicaciones biomédicas del Micro-CT Scan, así como la descripción de la técnica de impresión por deposición fundida en la creación de bioandamiajes. El segundo, sintetiza la revisión de literatura sobre el campo de la ingeniería de tejido óseo, y por último, el tercer capítulo recoge el detalle de los materiales, la estructura y las propiedades mecánicas ideales de un bioandamiaje, y las pruebas utilizadas para analizarlo, posterior a su impresión 3D.

La importancia de este proyecto radica en la aplicación de la ingeniería tisular para dar tratamiento a los defectos óseos como en los pacientes con labio paladar hendido, mediante la obtención de un bioandamiaje impreso en 3D, con óptimas características mecánicas, que pueda sustituir el tejido óseo faltante utilizando, además, tecnologías como Micro-CT Scan para obtener imágenes médicas con mayor resolución que sirvan para el modelado del bioandamiaje. Esto gracias a una primera etapa de investigación (realizada en el 2018-2019), que validó un protocolo abierto de impresión donde se pueden obtener estructuras 3D, aplicable a esta técnica de modelado por deposición fundida.

Adicionalmente, desde 2018 el Laboratorio de Fabricación (Fab Lab) Kå Träre de la Universidad Estatal a Distancia (UNED), el Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), el

Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), el Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC) y la Universidad de Costa Rica (UCR), trabajan conjuntamente en un proyecto del Fondo Especial de la Educación Superior (FEES) que busca la creación de andamios biocompatibles por medio de la impresión 3D para su implementación en estudios de biofísica celular e ingeniería de tejidos óseos, el cual es un proyecto financiado por el Consejo Nacional de Rectores (CONARE).

Junto con el esfuerzo y el trabajo de estas instituciones públicas del país en los proyectos mencionados anteriormente, desde este proyecto, se aportó a los objetivos de la iniciativa FEES por medio del análisis de las características de impresión 3D y las propiedades mecánicas de los bioandamiajes elaborados a partir de un biomaterial compuesto por diferentes proporciones de PLA y frústulas de diatomeas, para que estos bioandamiajes puedan ser, posteriormente, implementados en estudios de biofísica celular y en el campo de la ingeniería tisular; con el fin de mejorar el tratamiento que se brinda a los pacientes con labio paladar hendido en la población pediátrica de Costa Rica.

El seminario de graduación “**Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan**” se deriva del proyecto de investigación “Impresión 3D de modelos estereolitográficos con protocolos abiertos, periodo 2021” inscrito con el código 440-B9-318, en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica según oficio VI-1614-2019 y registrado con el código PROY0055-2016 en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Estatal a Distancia. Además, fue aprobado por el Comité Ético Científico de la Universidad de Costa Rica, en su sesión 126, del 28 de noviembre de 2018, según oficio VI-8581-CEC-0170-2018.

PARTE I

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

CAPÍTULO 1

Revisa la literatura del uso y aplicaciones biomédicas del Micro-CT Scan, así como la descripción de la técnica de impresión por deposición fundida en la creación de bioandamiajes

La microtomografía de rayos X, también conocida como Micro-CT Scan (μ CT, por sus siglas en inglés), es una técnica de imágenes radiográficas que puede producir imágenes en 3D de la estructura interna de un material, con una resolución espacial menor que 1 micrómetro (1 μ m), a diferencia de otras técnicas que se limitan a escanear únicamente regiones muy cercanas a la superficie de la muestra. (23) Esto es de gran interés en investigaciones en las cuales se requieren escaneos con un alto nivel de detalle, como por ejemplo: en la industria de los biomateriales, a la hora de examinar cerámicas y polímeros; y en la industria médica, para la creación de bioandamiajes de hueso. (13)

El Micro-CT Scan brinda la posibilidad de crear imágenes con cortes transversales de un objeto físico utilizando rayos X. Estas imágenes luego son procesadas por medio de un *software* para crear un modelo tridimensional digital del objeto escaneado. (13)

Como se muestra en la Figura 1, los principales componentes del Micro-CT Scan son los siguientes: micro tubo de rayos X, colimador y una cámara con una cubierta de fósforo. El micro tubo de rayos X es desde donde se emite la radiación, luego estos rayos son dirigidos inmediatamente por el colimador hasta el objeto escaneado, el cual se encuentra girando intermitentemente; después la cámara que se encuentra cubierta de fósforo está encargada de convertir los rayos X recibidos de la imagen a luz visible. Por último, la imagen final 3D se obtiene al escanear el objeto en diferentes ángulos de rotación y reconstruyendo la imagen. (13, 29)

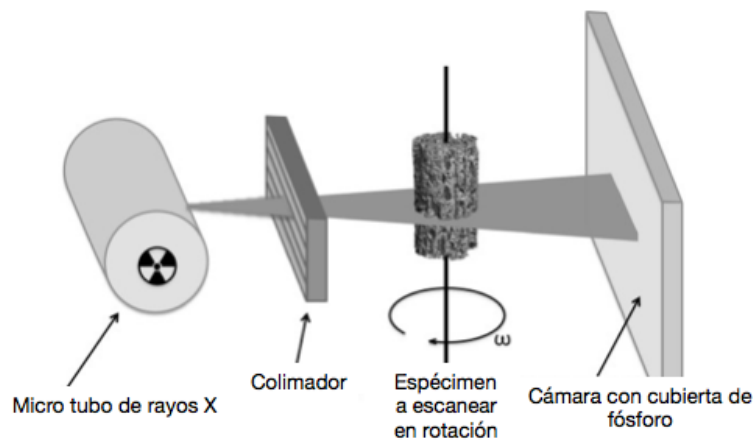


Figura 1. Principales componentes de un Micro-CT Scan (29)

Boerckel JD, Mason DE, McDermott AM, Alsberg E. Microcomputed tomography: approaches and applications in bioengineering. *Stem Cell Research & Therapy*. 2014 Dec 29; 5(6):144.

Históricamente en el campo de la ciencia histomorfogénica, a la hora de analizar las muestras se han utilizado métodos destructivos y con altos costos, los cuales hacen imposible reutilizarla para realizar más mediciones. (13) En cambio, con el uso del Micro-CT Scan, se tiene la ventaja de que la preparación de la muestra suele ser mínima y, para muchos materiales, la técnica no es destructiva, lo que permite realizar más exploraciones de la misma muestra en diferentes condiciones. (23, 24) Es por esto que la técnica tridimensional del Micro-CT Scan ha sido considerada como un método confiable, rápido y no destructivo, para analizar la microestructura del hueso cortical y trabecular, de modo que esta se ha convertido en una de las principales aplicaciones del Micro-CT Scan. (15, 24)

En los últimos años, los métodos de imágenes tridimensionales han sido usados tanto para propósitos científicos como para fines diagnósticos. Por ejemplo, actualmente estos métodos son utilizados para evaluar y diagnosticar ciertas alteraciones congénitas de los maxilares en el área de labio-paladar hendido. El rango de voxeles del Micro-CT Scan es casi un millón de veces más pequeño que un tomógrafo normal, por lo que se obtiene una imagen 3D con alta resolución. El Micro-CT Scan permite la visualización tridimensional de estructuras

anatómicas, y las medidas necesarias pueden ser obtenidas sin preparar las muestras histológicamente; es decir, la integridad de las muestras no se ve deteriorada, y no está sujeta a ningún cambio químico del espécimen. (13) Dependiendo de la cantidad de hidroxapatita presente en la muestra y de la alta resolución 3D que arrojan los datos obtenidos por el Micro-CT Scan, se puede llegar a determinar la densidad ósea, la separación trabecular, el grosor trabecular, el número de trabéculas y el volumen óseo. (13)

El uso de la tomografía computarizada en la ingeniería de tejidos se ha vuelto popular para examinar estructuras óseas. Estas muestras pueden ser escaneadas con el Micro-CT Scan de dos formas. La primera es recomendada si se requiere que las muestras no se vean perjudicadas por el calor o si tienen que ser expuestas a análisis histológicos después del escaneo ya que se realizan en un medio acuoso, que utiliza agua destilada. La segunda, es la prueba en seco, la cual es la forma más clásica y rápida de escaneo realizada por el Micro-CT Scan, este tipo de escaneo es utilizado en muestras que no se dañan con el calor. En ambos procesos, las muestras son escaneadas a 360 grados de rotación, con una alta resolución de escaneo, lo que genera cortes transversales que permiten visualizar los componentes óseos en imágenes en dirección axial. (13)

La excelente reproductividad y precisión de las imágenes obtenidas con el Micro-CT Scan en la morfología ósea han sido sobresalientes en diferentes estudios, al ser comparadas con las obtenidas por medio de escáneres 2D en especímenes animales y humanos. Los Micro-CT Scans obtienen sus imágenes por medio de voxels, los cuales son un conjunto de elementos discretos en los que se divide una representación de un objeto tridimensional. (27). Los Micro-CT Scans utilizados para escanear especímenes vivos, producen escaneos con tamaños de voxels en el rango de 1-30 μm , lo cual provee una resolución precisa de las estructuras trabeculares óseas. (13)

Según Orhan et al, (13) algunas de las ventajas del Micro-CT Scan son:

- La determinación 3D de las medidas de la morfología trabecular como la separación y el grosor trabecular; ya que con el escáner tradicional, esto no es posible.
- Comparado con la histología en 2D, es posible analizar un mayor volumen de muestra.
- Las medidas pueden ser tomadas de manera más rápida.
- Puede realizarse un escaneo en el cual no se dañen las muestras para un posterior análisis histológico y pruebas mecánicas.
- Su reconstrucción tridimensional de la región ósea de interés, reduce la alteración del lugar de la muestra y permite el cálculo real del volumen óseo.

Cabe destacar que una de las desventajas del Micro-CT Scan, es su alto costo, lo cual dificulta su uso en muchas investigaciones. Además se puede mencionar que los datos en la reconstrucción tridimensional de la imagen puede requerir de la inversión de mucho tiempo, especialmente si esta se debe realizar manualmente para poder identificar diferentes regiones de cada una de las capas y su correcta posición. (33)

Impresión por deposición fundida (FDM)

El método de impresión o modelado por deposición fundida se identifica por su sigla en inglés FDM, que significa *Fused Deposition Modeling*. Este se basa en la reproducción de un modelo 3D a partir de la superposición de capas secuenciales de un material termoplástico que posea un punto bajo de fusión. Este tipo de impresión utiliza un dispositivo trazador XYZ que lleva un cabezal de extrusión y cuenta con un filamento de plástico que se alimenta a través de un calentador, el material se calienta y pasa a un estado semifundido. El filamento se alimenta a través de una boquilla y se deposita en una plataforma para formar cada capa. Entre los materiales termoplásticos que se pueden utilizar están: el PLA (ácido poliláctico),

ABS (acrilonitrilo butadieno estireno), polímeros epóxicos basados en acrílicos, biomateriales (policaprolactona), entre otros. (17, 21)

Esta técnica de impresión presenta ventajas importantes que hacen posible la impresión de bioandamiajes. Entre ellas, que por los materiales utilizados se producen modelos duros, robustos y complejos; también se pueden mezclar varios polímeros biocompatibles antes de la impresión 3D y además, brinda una buena precisión a un costo razonable. (18, 19)

Sin embargo, la impresión 3D de tipo FDM es un proceso complejo con una gran cantidad de variables que, al ser modificadas, pueden influir en el producto final de impresión. Entre estos parámetros se pueden mencionar: la orientación de construcción, el grosor de capa, el ángulo de trama, el ancho de trama, el espacio de aire, la densidad y el patrón de relleno y velocidad de impresión, temperatura, entre otros. (19, 21) Según Amini et al, la variación de estos parámetros de impresión va a causar pequeños o grandes efectos en la estructura final; como por ejemplo: la resolución y el tamaño de la estructura, la orientación de la impresión, el tipo de material, el método de impresión. Debido a esto, se considera que las propiedades estructurales y mecánicas, del producto final son directamente dependientes de dichos parámetros. (26)

A partir de la primera década de este siglo, se han realizado aplicaciones de la impresión 3D en la ingeniería de tejidos óseos, y también se han producido andamios para brindar soporte para que las células crezcan y regeneren antes de migrarlas al sitio de interés para formar nuevos tejidos.

A partir de esta línea, otro enfoque que se ha dado a este tipo de impresión es la regeneración del tejido óseo, con el uso de andamios como estructuras temporales que inducen a la regeneración ósea y, posteriormente, el material es reabsorbido por los osteoclastos. Por lo tanto, los andamios ofrecen apoyo, soportando el peso del movimiento del paciente, mientras

se produce la generación de tejido óseo. Esto implica el reclutamiento de células madre mesenquimales que maduran en osteoblastos y comienzan a formar el hueso, a su vez, el andamio se degrada. Por lo tanto, el andamio ideal se reabsorbe a una velocidad igual a la del tejido en desarrollo, lo que permite que el peso aplicado al implante sea transferido, lentamente, al hueso recién formado. Sin embargo, esto no puede ser logrado mediante el uso de componentes óseos naturales, como hidroxiapatita, porque este material hace que los andamios sean frágiles, lo que limita la carga que pueden soportar y, por lo tanto, la regeneración ósea. No obstante, se pueden fabricar andamios porosos, en los que la porosidad regula la tasa de reabsorción de los materiales. (20, 21)

CAPÍTULO 2

Revisa la literatura sobre el campo de la ingeniería de tejido óseo

La ingeniería de tejidos es un campo relativamente nuevo, en el cual se interconectan muchas disciplinas, como la ciencia de los materiales, la ingeniería mecánica, la medicina clínica y la genética. Su objetivo principal es la restauración, la preservación y la mejora de la función de los tejidos mediante la creación de andamiajes tridimensionales porosos, por lo que se logra la simulación del comportamiento natural del tejido y, de esta manera, se disminuye el riesgo de rechazo inmunológico, situación que constituye su desafío principal. (1, 2)

Un buen conocimiento de la estructura y de los componentes celulares del hueso es un requisito indispensable en la ingeniería del tejido óseo. Esto debido a que es una forma de tejido conectivo altamente especializada, la cual se somete a sutiles y continuos procesos de remodelación para poder cumplir con una gran cantidad de funciones mecánicas, químicas y hematológicas. (5)

Actividad celular y procesos de remodelación ósea

El hueso es un órgano dinámico que posee características regenerativas extraordinarias. El proceso de homeostasis ósea requiere de células viables (osteoblastos, osteoclastos y osteocitos), una adecuada vascularidad, estabilidad y de la presencia de factores y una matriz de crecimiento. (12) El rol principal de los osteoblastos en los procesos de reabsorción y remodelación ósea es la deposición de matriz osteoide. Conforme las células osteoblásticas van madurando quedan envueltas en esta matriz para, posteriormente, convertirse en un osteocito, los cuales comprenden más del 95% de las células óseas. Por otro lado, los osteoclastos, que son células largas y multinucleadas creadas por la fusión de múltiples monocitos, tienen como función principal, la reabsorción de matriz ósea por medio de la producción de enzimas proteolíticas. (12) Sin embargo, se debe contar con un equilibrio en

estos procesos de reabsorción y de formación de tejido óseo, para poder contar con esa dinamicidad y capacidad regenerativa del hueso.

Arquitectura y propiedades mecánicas del hueso

El tejido óseo posee una estructura muy compleja, en la cual se llevan a cabo diversas funciones mecánicas, biológicas y químicas. Esta estructura heterogénea posee una composición de macroestructuras, microestructuras, submicroestructuras, nanoestructuras y subnanoestructuras, componentes que se encuentran diseñados para cumplir con las necesidades funcionales del tejido óseo. (11)

La matriz ósea extracelular es el componente del tejido óseo responsable de brindar las características biomecánicas extraordinarias que posee. Esta matriz está compuesta por componentes orgánicos (22%), minerales cristalinos inorgánicos (69%) y agua (9%). Aproximadamente 10% del componente orgánico se le atribuye a las proteínas no colagenosas, principalmente osteocalcina, osteonectina, osteopontina y sialoproteína ósea, componentes que son los encargados de asegurar la flexibilidad y la viscosidad del tejido óseo. Los minerales cristalinos inorgánicos están representados por la hidroxiapatita mineral y el fosfato cálcico, los cuales se encargan de brindar las propiedades de fuerza, rigidez y resistencia al hueso. (2, 3)

La macroestructura ósea se refiere a la forma general del hueso y consta de dos diferentes estructuras, la parte trabecular o esponjosa y la parte cortical o compacta. El hueso esponjoso tiene una porosidad de 50-90% en volumen, y el hueso cortical tiene una porosidad inferior a 10% en volumen, de hecho el nivel de porosidad es una de las principales diferencias entre ambos. (4, 25) Las propiedades mecánicas de ambos tipos de hueso (cortical y esponjoso), que tienen distintas características estructurales y de composición, se describen en la siguiente tabla. (5, 16, 25)

Tabla 1. Propiedades mecánicas del hueso cortical y hueso esponjoso (5)

Propiedades	Hueso cortical	Hueso esponjoso
Fuerza compresiva (MPa)	100-230	2-12
Fuerza tensil (MPa)	50-150	10-20
Esfuerzo de falla (%)	1-3	5-7
Resistencia a la fractura (MPam ^{1/2})	2-12	-
Modulo de Young (GPa)	7-30	0,5-0,05

La microestructura ósea (de aproximadamente 10 a 500 μm) consta del sistema de Havers, osteonas y trabéculas simples, la submicroestructura (de 1 a 10 μm) consta de laminillas, la nanoestructura (de unos cientos de nanómetros a 1 μm) consta de colágeno fibrilar y minerales incrustados, y la subnanoestructura (por debajo de unos pocos cientos de nanómetros de minerales) consta de colágeno, proteínas orgánicas no colágenas y elementos estructurales fundamentales. (2)

Injertos Óseos

Los injertos óseos se pueden clasificar en 3 tipos distintos: autoinjerto, aloinjerto y sustitutos de injertos óseos. Tienen distintas propiedades de osteoconducción, osteoinducción y osteogénesis. Bajo ciertas condiciones, los injertos óseos no solo deben estimular el proceso de reparación óseo, sino también brindar un soporte estructural del sitio. (11, 12)

La osteoconducción es el proceso en el cual un injerto óseo actúa como un bioandamiaje, al poseer la habilidad de generar un ambiente capaz de alojar células madre mesenquimales, osteoblastos y osteoclastos. Microscópicamente, esta red de poros osteoconductores del injerto óseo va a asemejar la microestructura del hueso. (12)

La osteoinducción se define como el proceso de reclutamiento, proliferación y diferenciación de las células madre mesenquimales a condroblastos y osteoblastos, induciendo la formación de nuevo tejido óseo. Este proceso de formación de hueso requiere de la participación de factores de crecimiento, como las proteínas morfogénicas del hueso (BMPs), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). (12) De esta manera, se puede inferir que un material osteoinductivo es aquel capaz de inducir la transformación de células indiferenciadas en células osteoblásticas y condroblásticas, en una zona en la que normalmente no ocurre este fenómeno.

Para que un injerto óseo posea propiedades de osteogénesis, debe contener células madre mesenquimales viables, osteoblastos y osteocitos, para que pueda formar nuevo hueso. El injerto óseo osteogénico más utilizado es el autoinjerto. (12)

El autoinjerto se califica como el patrón de referencia para métodos clínicos, dadas sus propiedades de biocompatibilidad, osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción. Aún así este tipo de injerto posee desventajas, como lo son la morbilidad del sitio de donación, la necesidad de cirugías extensas, la alta tasa de reabsorción y, principalmente, la disponibilidad limitada de tejido donante. (6)

Con el fin de compensar estas desventajas, se han desarrollado diferentes soluciones en el área de la medicina regenerativa, incluyendo la sustitución con materiales aloplásticos; que aunque no tienen las mismas propiedades osteogénicas que el autoinjerto, poseen buenas propiedades mecánicas en presencia de pequeños defectos, tasas de reabsorción más bajas y una sola intervención quirúrgica, ofreciendo así un gran potencial de aplicabilidad clínica. (6)

En el caso específico de la aplicabilidad clínica en los pacientes con labio paladar hendido, estos presentan defectos óseos de dos paredes en donde se requiere de la creación de colgajos mucoperiosticos para crear la continuidad de un nuevo piso nasal y mucosa oral. (15) Debido

a que se necesita una gran estabilidad dimensional y propiedades biomecánicas ideales en el sitio de reconstrucción, se ha implementado la fabricación de bioandamiajes, por medio de la impresión 3D, con una macro y microestructura personalizada al defecto óseo de cada paciente que promueven el proceso de osteogénesis y sanado del tejido óseo. (15)

CAPÍTULO 3

Revisa los materiales, estructura y propiedades mecánicas ideales de un bioandamiaje y las pruebas utilizadas para su análisis, posterior a su impresión 3D

Bioandamiajes a base de polímeros

La funcionalidad de los andamios depende no sólo de la técnica utilizada para su fabricación, sino también de la geometría y la arquitectura interna de la estructura, y del material seleccionado para construir su estructura tridimensional, parámetros cruciales que afectan su éxito. (8)

El diseño y la arquitectura interna de una estructura tridimensional depende fuertemente de su aplicación final, por eso puede crearse una amplia variedad de geometrías en la estructura. Dentro de estas geometrías se puede mencionar el tamaño, la forma y la orientación de los poros, los cuales son parámetros importantes en la respuesta de las células óseas. La arquitectura de los andamios no solamente afecta el rendimiento mecánico, sino también en la permeabilidad, la difusión de nutrientes y la respuesta celular. (8)

Selección del material base

Se han creado muchos materiales con características de biocompatibilidad y no tóxicos para las células, pero esta ausencia de toxicidad en un biomaterial no tiene relación con el hecho de que el material sea capaz de permitir o no el crecimiento celular, ya que las células solamente pueden crecer en determinados sustratos. Lo anterior suele ser muy evidente al observar estructuras celulares con una mayor compatibilidad o afinidad a unos biomateriales que a otros; tanto en su adhesión celular, como en el nivel de proliferación celular que logran a través de dicho material. Ambas características pueden ser mejoradas, modificando las características físicas de la superficie del material con el que se vaya a trabajar, ya que esto

puede fomentar un aumento en la tasa de proliferación de las células; como por ejemplo, la proliferación de los osteoblastos, en el caso de un bioandamiaje en tejido óseo. (11)

La elección correcta del material es crucial para obtener una estructura tridimensional funcional. Las propiedades intrínsecas de los materiales pueden afectar las propiedades internas de la estructura final, las propiedades mecánicas y el desempeño en general del andamiaje. (8)

A la hora de elegir el material base para la elaboración y diseño de un bioandamiaje es importante tomar en cuenta seis aspectos muy importantes (11):

1. La biocompatibilidad del material en términos de proliferación celular y la ausencia de toxicidad y reacciones inflamatorias.
2. La biodegradabilidad del material para una adecuada sustitución del andamio por la deposición osteoide generada.
3. Las propiedades mecánicas del material seleccionado.
4. La arquitectura adecuada en términos de porcentaje de porosidad y el tamaño de los poros para la penetración celular, de nutrientes, liberación de desechos y para el proceso de angiogénesis.
5. La conservación de la bioactividad del material al someterse a procesos de esterilización requeridos.
6. Un adecuado control del flujo de moléculas bioactivas o medicamentos que requieran transitar a través del material.

Debido a que el hueso es el segundo trasplante más común en el mundo después de la sangre, la ingeniería de tejido óseo se ha comprometido en crear alternativas para las limitaciones asociadas a los injertos convencionales; como por ejemplo, el desarrollo de bioandamiajes porosos tridimensionales. (16)

Estos bioandamiajes funcionan porque recrean el microambiente del hueso, dejando que se desarrolle el tejido vivo dentro de ellos. Son colocados *in vitro* con células activas/vivas dentro de un sitio dañado y, después, se van gradualmente desintegrando y son absorbidos por el cuerpo, mientras que las células del nuevo tejido van proliferando en la estructura porosa. (16)

Los materiales poliméricos y las cerámicas bioactivas han sido utilizadas para crear estos bioandamiajes. Algunos ejemplos de materiales poliméricos son: PLA ácido poliláctico, PLC policaprolactona, PEEK poliéter éter cetona, PLG ácido poliglicólico. Por otro lado, se tienen los cerámicos bioactivos como: HA hidroxapatita, TCP fosfato tricálcico. (16)

La regeneración tisular del hueso requiere una alta porosidad para permitir la migración de las células, la vascularización y la difusión de los nutrientes. Un buen andamiaje debe de tener propiedades mecánicas que aseguren que la estructura pueda sufrir una deformación elástica antes de ser implantada sin daño permanente, tenga la resistencia suficiente para su manipulación durante la esterilización y brinde soporte cuando se aplique *in vivo*. En resumen, las propiedades mecánicas más relevantes del bioandamiaje incluyen rigidez, resistencia a la compresión y resistencia a la fatiga.(16)

La impresión por deposición asegura un control más preciso sobre el tamaño, la forma y la interconectividad de la estructura de macro y microporos. La fabricación de filamentos fundidos se ha establecido como la tecnología más adecuada para el procesamiento de andamios de polímeros sintéticos, ya que permite calentar, fusionar y extruir a través de una boquilla un polímero biocompatible como el PLA en forma de filamento, y depositarlo en un patrón predefinido. Entonces, es posible crear desde diseños de andamios simples hasta complejos, controlando la porosidad general, las dimensiones porosas y la conectividad. (16)

Propiedades de la superficie del bioandamiaje

En general, el éxito de un biomaterial depende de su interacción con el entorno biológico. Existen aplicaciones en donde un contacto directo entre la entidad biológica y el material es necesario, mientras en otras aplicaciones donde es necesario un contacto mínimo u ocasional.

(8)

Hence es sumamente claro en que la superficie de los biomateriales es crucial para mejorar y controlar la respuesta biológica de los andamios. La química de la superficie y su topografía son las características más importantes por considerar, ya que pueden afectar la respuesta biológica de los biomateriales. (8)

Tanto la micro como la nano porosidad juegan un rol muy importante en la adhesión; y además, en la respuesta celular. La nano porosidad aumenta el contacto del área de superficie entre el material y la entidad biológica. (8)

El diseño y la fabricación de andamiajes, con una estructura altamente porosa y con propiedades mecánicas suficientes, son unos de los aspectos más importantes en la ingeniería de tejido óseo. (12) Los andamiajes elaborados a base de polímeros para la regeneración de tejido óseo dañado o ausente deben de ser biocompatibles y, en ciertos casos, biodegradables.

(6)

Propiedades mecánicas de los bioandamiajes

La mayoría de los bioandamiajes trabajan bajo principios similares, pero sus propiedades mecánicas y la manera en la que estos se reabsorben varían de uno a otro. (12)

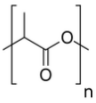
Los polímeros con una memoria de forma o *Shape Memory Effect* (SME), son de gran interés y pueden ser usados para crear andamios en la ingeniería tisular. Este término fue descrito por primera vez en 1953 y desde entonces se ha estudiado muy activamente en diferentes tipos de polímeros. (6)

El ácido poliláctico es un polímero biodegradable que puede producirse a partir del ácido láctico. Es un material termoplástico sumamente importante en la industria médica debido a su alto módulo de elasticidad (3,3 - 3,6 GPa) y por la posibilidad de utilizarlo en métodos de impresión 3D. Las propiedades de SME del PLA, como el *stress recovery* y la tensión, pueden ser mejoradas por medio del *crosslinking* (unión del material con otros polímeros) o por medio de la modificación química. (6)

Los materiales biodegradables, a base de PLA, se han estudiado exhaustivamente como andamiajes en la ingeniería de tejido. Varias técnicas han sido aplicadas en la fabricación de andamiajes porosos en esta ingeniería, pero existen muchas limitaciones en el control de su estructura. (11)

Según la literatura, los bioandamiajes a base de PLA, cuentan con muchas ventajas como se describen en la tabla 2. Al contar con altos niveles de biocompatibilidad, biodegradabilidad y soportar la adhesión celular estos bioandamiajes son comúnmente utilizados en la ingeniería de tejidos óseo, como en el relleno de la cavidad y los senos nasales. Este material no presenta toxicidad, no es inflamable y está aprobado por la *Food and Drug Administration* o FDA. (11)

Tabla 2. Propiedad de los bioandamiajes a base de ácido poliláctico (11)

Nombre	Propiedades mecánicas	Modificaciones	Ventajas	Aplicaciones	Toxicidad	Estructura química
Sintético Ácido Poliláctico (PLA)	+++	Puede ser modificado al agregarle otros materiales. Ej: HA	Biocompatible Biodegradable Adhesión celular	Ingeniería tisular	No tóxico No inflamatorio Aprobado por la FDA	

En este proyecto, el bioandamiaje impreso está conformado a base de PLA, frústulas de diatomeas y fosfato de calcio. Las diatomeas son algas unicelulares que se pueden encontrar casi en cualquier ambiente acuoso. Poseen una característica morfogénica única y su pared celular porosa es llamada “frústula”, la cual está compuesta principalmente de biosílice. Las frústulas están ensambladas en capas porosas, con propiedades únicas de biocompatibilidad, estabilidad térmica, alta resistencia mecánica y química, teniendo como función principal la protección de la diatomea. (14)

Existen más de 100 000 especies diferentes de diatomeas y cada una de sus frústulas tiene una única estructura 3D, una única forma, un único tamaño (desde los 500 nm a los 50 μm), y superficies únicas. Las frústulas son las encargadas de seleccionar, gracias a su morfología, el paso de nutrientes, la optimización de energía y la protección antibacterial de la diatomea. (14)

Las frústulas poseen un gran área de superficie ya que están compuestas por hexágonos dispuestos en tres capas porosas, en las cuales los poros están uniformemente ordenados y van aumentando o disminuyendo su tamaño en diámetro, de afuera hacia adentro de la estructura de la diatomea; con el fin de crear protección mecánica y que solo los nutrientes seleccionados puedan atravesarla. (14)

Las frústulas de las diatomeas están formadas por nanopartículas de sílice, recubiertas por matrices que contienen carbohidratos y proteínas. (22) Con respecto a las aplicaciones médicas de la frústula de las diatomeas, el sílice juega un rol fundamental en la formación de hueso en el cuerpo, en el funcionamiento de osteoblastos y en la inducción del proceso de mineralización. Gracias a sus propiedades estructurales y de biocompatibilidad, descritas anteriormente, las diatomeas son utilizadas como parte de un novedoso bioandamiaje de bajo costo para una amplia gama de aplicaciones biomédicas, principalmente el transporte de

medicamentos y la ingeniería tisular (14) al lograr un aumento en la tasa de proliferación de los osteoblastos y en la adhesión celular, promoviendo un aumento en la longevidad celular y en la osteoactividad por sus superficies porosas. (8)

El último componente tomado en cuenta para la fabricación de los bioandamiajes dentro de nuestro estudio es el fosfato de calcio, esto debido a que la literatura menciona que este posee similitud química con el hueso humano y presenta una biodegradabilidad óptima lo que permite el crecimiento óseo y su regeneración una vez que este ha sido degradado. Los bioandamiajes hechos a partir de este componente presentan una ventaja en regeneración ósea debido a que promueven activamente el proceso de osteogénesis. El control estructural de este tipo de bioandamiajes en su macro, micro y nano escala y su combinación con materiales poliméricos suele generar buenos resultados en la ingeniería de tejidos óseos. (31)

PARTE II
ARTÍCULO CIENTÍFICO

Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan

RESUMEN

Objetivo: El propósito de esta investigación es determinar el biopolímero con las mejores características de impresión 3D y propiedades mecánicas para la fabricación de un andamiaje, utilizando la técnica de deposición fundida, con modelos estereolitográficos generados a partir de un Micro-CT Scan.

Metodología: La presente investigación es un estudio exploratorio experimental, cuya conceptualización y análisis requirió una revisión de literatura de artículos científicos. Se realiza la impresión 3D de un bioandamio a 150% del tamaño original, utilizando la técnica por deposición fundida, a partir de un archivo en formato STL que se obtiene de un Micro-CT Scan tomado a una estructura ósea de cresta ilíaca bovina. Se realizaron tres grupos de estudio, con trece estructuras impresas cada uno. El primero, se compone 100% de PLA. El segundo, filamento 90B, se compone de 20g de ácido poliláctico por 1g de extracto de diatomea, y el tercero, filamento 88C, se diferencia de este último ya que contiene además, 1g de fosfato de calcio. A las 39 estructuras se les realizó una prueba de inspección visual, por lo que se requirió la confección de un patrón de oro en resina, con mayor detalle y similitud a la estructura ósea escaneada. Finalmente, las estructuras fueron sometidas a una fuerza compresiva (N) para la obtención del módulo de elasticidad (MPa) y de la resistencia compresiva (MPa) de cada una de ellas.

Resultados: Se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,001$) en las propiedades de impresión del biomaterial 88C, con respecto al 90B y al PLA puro. El filamento 88C presentó las mejores características de impresión 3D utilizando la técnica de impresión por deposición fundida, a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan. Además, el biopolímero 88C, presentó las mejores propiedades mecánicas en comparación con los otros grupos de materiales. Aunque la diferencia entre estos no fue estadísticamente significativa ($p=0,388$), en las estructuras del biomaterial 88C, se pudieron observar valores de resistencia compresiva de 8,84692 MPa y un módulo de elasticidad de 43,23615 MPa, semejantes a los del hueso esponjoso de los maxilares.

Conclusión: El biomaterial que presentó las mejores características de impresión y mecánicas para elaborar un bioandamiaje mediante impresión 3D utilizando la técnica de deposición fundida a partir de modelos estereolitográficos generados a partir de Micro-CT Scan fue el filamento 88C, compuesto de 20g de ácido poliláctico, 1g de extracto de diatomea, y 1g de fosfato de calcio. A razón de este resultado, el 88C se convirtió en un material con potencial para ser utilizado en la fabricación de bioandamiajes en la ingeniería tisular.

Palabras clave: Bioandamiaje. PLA. Impresión 3D. FDM. Biomaterial. Defecto[AND]óseo.

INTRODUCCIÓN

Los defectos en el tejido óseo craneofacial provienen de múltiples complicaciones como lo son traumas, resecciones quirúrgicas, defectos congénitos, patologías e infecciones crónicas frecuentes (por ejemplo: caries y enfermedad periodontal). Ante esta problemática se han tenido que desarrollar investigaciones en nuevos campos, como la ingeniería tisular para la fabricación de injertos óseos (1), lo que ha permitido grandes avances en la medicina regenerativa, devolviéndole funcionalidad al tejido óseo.

Entre las malformaciones craneofaciales congénitas más comunes se encuentra la fisura labio palatina, sin embargo, existen pocos estudios en la literatura sobre la ingeniería tisular aplicada a la regeneración ósea en pacientes con esta condición. (3)

A partir de la década del 2000 se han realizado aplicaciones de la impresión 3D en la ingeniería de tejidos óseos. Se han producido andamios para brindar soporte para que las células crezcan y se regeneren antes de migrar al sitio de interés para formar nuevos tejidos. Otra aplicación es la regeneración del tejido óseo, al producir andamios como estructuras temporales que inducen a la regeneración ósea y posteriormente, el material es reabsorbido por los osteoclastos. Por lo tanto, un andamio ideal se reabsorbe a una velocidad igual a la del tejido en desarrollo. (20, 21)

Con el fin de obtener imágenes precisas de la morfología ósea, para la impresión de los andamiajes mencionados en el párrafo anterior, se recurre al uso del Micro-CT Scan ya que logra una excelente reproductividad y precisión de las imágenes obtenidas en archivos DICOM, que posteriormente se convierten a archivos STL para ser compatibles con las impresoras 3D. (4, 13)

La tecnología de impresión 3D utilizada en este proyecto es el Modelado por Deposición Fundida (FDM), la cual es una técnica de fabricación aditiva que tiene la capacidad de

producir objetos 3D de geometrías complejas y precisas a partir de datos CAD. (28) En conjunto con las imágenes médicas de hueso bovino obtenidas con el Micro-CT Scan brindadas por parte de la colaboración con el proyecto de graduación de la estudiante Laura Rojas del Instituto Tecnológico de Costa Rica y gracias a una primera etapa de investigación del Seminario de Graduación llamado “Impresión 3D de modelos estereolitográficos con protocolos abiertos-estudio piloto” (realizada en el 2018-2019), en la cual se validó un protocolo abierto de impresión donde se pueden obtener estructuras 3D aplicando la técnica de modelado por deposición fundida, (19) se llevó a cabo un estudio exploratorio experimental, el cual tiene como objetivo principal analizar la composición del biomaterial que permite las mejores características de impresión 3D y propiedades mecánicas de un andamiaje. El método de modelado por deposición fundida requiere materiales termoplásticos que cuenten con propiedades físicas y mecánicas adecuadas, como el ácido poliláctico (PLA), el cual es un material que permite la confección de estructuras complejas y con alto grado de precisión. (8, 9) En este estudio se prueba la incorporación de otros componentes al PLA con el fin de mejorar las características del bioandamiaje como por ejemplo: biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades mecánicas similares al hueso. De ser posible, también se desea crear un bioandamiaje con propiedades de impresión óptimas y viables con una técnica de impresión accesible. Entre los componentes que se deciden agregar, se encuentran las frústulas de las diatomeas que gracias a su composición de sílice y a sus superficies porosas, al entrar en contacto con las células osteoprogenitoras aumentan la longevidad y la osteoactividad celular. (7, 14) Con ellos se intenta generar un ambiente óptimo para la formación de tejido óseo con aplicación clínica en los defectos de los maxilares como puede ser la fisura labio palatina. (15) El otro componente es el fosfato de calcio, el cual posee similitud química con el hueso humano y presenta una biodegradabilidad óptima, permitiendo de esta manera el crecimiento óseo, su regeneración una vez que este ha sido degradado, y además la activación del proceso de osteogénesis. (31)

A partir del proyecto financiado por el Consejo Nacional de Rectores (CONARE) por medio del Fondo Especial para la Educación Superior (FEES) que tiene como objetivo la creación de andamios biocompatibles, por medio de la impresión 3D, para su implementación en estudios de biofísica celular y en el campo de la ingeniería de tejidos óseos, se toma la decisión de empezar con este estudio para lograr la selección del biomaterial con las mejores características de impresión y propiedades mecánicas ideales.

Lo anteriormente mencionado se llevó a cabo con el esfuerzo y trabajo en conjunto de instituciones públicas del país, como lo son el Instituto Tecnológico de Costa Rica, la Universidad Estatal a Distancia, el Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología, el Centro Nacional de Alta Tecnología de Costa Rica y la Universidad de Costa Rica.

Como hipótesis de este estudio se planteó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ninguno de los filamentos a observar, en cuanto a las características de impresión y propiedades mecánicas.

METODOLOGÍA

El seminario de graduación “Impresión 3D mediante técnica de deposición fundida para la creación de bioandamiajes a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan” se deriva del proyecto de investigación “Impresión 3D de modelos estereolitográficos con protocolos abiertos, periodo 2021” inscrito con el código 440-B9-318, en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica según oficio VI-1614-2019 y registrado con el código PROY0055-2016 en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Estatal a Distancia. Además, fue aprobado por el Comité Ético Científico de la Universidad de Costa Rica, en su sesión 126, del 28 de noviembre de 2018, según oficio VI-8581-CEC-0170-2018.

Para la conceptualización y estudio del presente trabajo se realizó una revisión de artículos relacionados con el tema y publicados en las bases de datos indexadas del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI) de la Universidad de Costa Rica, específicamente en Pubmed, en Embase, y en Science Direct.

La búsqueda de literatura se basó en la siguiente terminología: impresión 3D, Micro-CT Scan, impresión por deposición fundida o FDM, ingeniería de tejido óseo, bioandamiajes, biomateriales, y pruebas mecánicas.

La presente investigación se define como un estudio exploratorio experimental. Es exploratorio ya que tiene como objetivo realizar las variaciones necesarias del protocolo abierto anteriormente descrito en el Proyecto “Impresión 3D de modelos estereolitográficas con protocolos abiertos - estudio piloto”, para poder imprimir a partir de un Mico-CT Scan, la recreación de una estructura ósea que pueda ser empleada a futuro como un bioandamiaje, y con ello indicar la composición del biomaterial que tenga las mejores características de impresión para lograr dicha función.

Por otro lado, se define como estudio experimental ya que las estructuras impresas son sometidas posteriormente a un proceso cuyas variables son manipuladas en condiciones

controladas, como lo es la aplicación de una fuerza N por medio de una prueba mecánica de compresión para la obtención del módulo de elasticidad y la resistencia compresiva de cada una de estas estructuras impresas.

Para este proyecto de investigación se contó con la ayuda de varias instituciones. La microtomografía utilizada se obtuvo de una estructura ósea proveniente de una cresta ilíaca bovina, utilizando el Micro-CT Scan Carl Zeiss LTd, CT5000, de la Escuela de Diseño y Mecánica en Ingeniería de la Universidad de Portsmouth, United Kingdom. Estas imágenes las obtuvo y nos las facilitó la estudiante de doctorado Laura Rojas Rojas, graduada de la Escuela de Física de la Universidad de Costa Rica, y se obtuvieron como parte del proyecto de investigación inscrito en la Vicerrectoría del Instituto Tecnológico de Costa Rica con el nombre de **Desarrollo de un sistema de estudios *in vitro* adaptable en un equipo de pruebas dinámicas, con miras a generar estímulos biomecánicos sobre cultivos celulares**; en el que ella participa. Las impresiones de las estructuras 3D se trabajaron en los equipos de impresión del Laboratorio de Fabricación (Fab Lab) Kå Träre de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica, específicamente la impresora de deposición fundida, Original Prusa i3. Para esto, se utilizó una modificación del protocolo abierto creado en la primera etapa de investigación de este proyecto, en el año 2018 (ver Anexo 1), el cual detalla el proceso desde la adquisición del Micro-CT Scan de la estructura ósea hasta la impresión 3D del bioandamiaje, a partir de archivos tipo DICOM.

Para obtener los materiales para la impresión 3D de estos bioandamiajes, se contó con el aporte del biopolímero por parte del Laboratorio Nacional de Nanotecnología, perteneciente al Centro Nacional de Alta Tecnología de Costa Rica, ente participante en el proyecto que tiene como objetivo la creación de andamios biocompatibles, por medio de la impresión 3D, para su implementación en estudios de biofísica celular e ingeniería de tejidos óseos. Dicho proyecto es financiado por el Consejo Nacional de Rectores (CONARE) por medio del Fondo Especial para la Educación Superior (FEES).

Se manufacturaron manualmente tres tipos de filamentos a base de ácido poliláctico o PLA, utilizando la extrusora de filamento Filabot EX2, y siguiendo el protocolo descrito en el Anexo 3. El primer filamento de PLA, se compone 100% de PLA. El filamento 90B, se compone de 20g de ácido poliláctico por 1g de extracto de diatomea y el filamento 88C se diferencia de este último ya que contiene además, 1g de fosfato de calcio. Cabe destacar que el extracto de polvo de diatomea fue obtenido gracias a la colaboración del Centro de Investigación de Ciencias del Mar y Limnología, adscrito a la Universidad de Costa Rica y quien también participa en el proyecto del FEES descrito anteriormente

Para la investigación se requirió determinar una muestra estadística, la cual indica el número de bioandamiajes que se debían imprimir, por cada uno de los filamentos observados. Esta muestra permite estimaciones con un nivel de confianza de 95%, una bondad de ajuste de 80%, un error máximo permisible de 235 MPa en el promedio de fuerza compresiva por utilizar posteriormente en las pruebas mecánicas.

La fórmula para determinar el tamaño de la muestra para cada uno de los experimentos es la siguiente:

Donde:

$$n \geq \frac{\left(z_{(1-\alpha/2)} + z_{(1-\beta)} \right)^2}{(d)^2} \sigma^2$$

n : tamaño de muestra

$z_{(1-\alpha/2)}$: es el valor asociado al nivel de confianza en la distribución normal estándar.

$z_{(1-\beta)}$: es el valor asociado a la potencia de la prueba en la distribución normal estándar.

d : es el error máximo permisible equivalente a un 5% en la fuerza de MPS.

σ^2 : máxima variabilidad observada en el estudio de F.S.Senatov et al.

Una vez integrada los valores reales a la fórmula el resultado es el siguiente:

$$n = \frac{(1.96+0.84)^2}{(2.35)^2} (9,2)^2 = 13$$

La muestra final, según el experimento descrito, es la siguiente:

$$n_f = n * c = 3 * 13 = 39$$

Donde:

n_f : Muestra final

c : Número de interacciones en el experimento

Se determina la necesidad de imprimir 13 estructuras completas, por cada uno de los filamentos, lo que resulta en un total de 39 bioandamiajes para que el proyecto de investigación contara con resultados estadísticamente significativos. Se decide imprimir dichas estructuras a una escala de impresión de un 150% debido a que esta escala es la más adecuada para el proceso de impresión con la técnica por deposición fundida, ya que, al imprimir a una escala del 100% se presentan dificultades en el proceso.

Las impresiones fallidas se tomaron en cuenta en la recolección de resultados únicamente para indicar la factibilidad de impresión de cada grupo de estructuras a base de PLA.

Para la realización de la prueba de inspección visual se requirió la confección de un patrón de oro, impreso en material resinoso White V4 en la impresora FormLabs, esto con el fin de obtener una impresión con mayor detalle y similitud a la estructura ósea escaneada por el Micro-CT Scan, al considerar las propiedades de impresión ideales de la resina fotocurable, como se muestra en el Anexo 2. Las estructuras que se lograron imprimir completamente fueron evaluadas visualmente por medio de una escala del I al III, dependiendo de su similitud a un patrón de oro impreso en resina como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 3. Escala de inspección visual de las estructuras impresas con respecto al patrón en resina

Si	Se logra la impresión de la estructura	
	I	Se asemeja bastante al patrón de la impresión en resina
	II	Se asemeja parcialmente al patrón de la impresión en resina
	III	No se asemeja al patrón de la impresión en resina
No	No se logra la impresión de la estructura	

Esta inspección visual, descrita en el Anexo 4, fue realizada por un solo operador para garantizar que fuera la misma opinión subjetiva. Utilizando un microscopio digital, proporcionado por el Laboratorio de Materiales Dentales de la Facultad de Odontología, se lograron obtener fotografías detalladas de cada una de las estructuras impresas y su comparación con el patrón de resina creado.

Finalmente, cada una de las estructuras impresas fue sometida a una fuerza compresiva utilizando la máquina de ensayo universal marca Instron Electro Plus E3000, del Laboratorio de Materiales Dentales de la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica. A cada una de ellas se le aplicó una fuerza compresiva N , con un desplazamiento de 15 mm, a una velocidad de 5 mm/min. Durante este proceso de compresión, se pudo determinar la resistencia compresiva y el módulo de Young o elasticidad de cada una de ellas, con el fin de comparar los 3 grupos de estudio. (ver Anexo 5)

Los datos se almacenaron en Microsoft Excel y se analizaron con el programa de análisis estadístico de SPSS versión 22. Se calcularon los estadísticos descriptivos, incluidas las medias, las desviaciones estándar y los errores estándar, para todas las mediciones.

Una vez obtenidos los datos para la validación, confiabilidad y operacionalidad de los protocolos y resultados generados, se aplicó como método estadístico la distribución de

frecuencias de las variables, cruce de variables, análisis de asociación estadística y análisis de varianza; las comparaciones se realizaron al 95% de confianza. Este análisis se efectuó con la guía de la M.Sc. Jaqueline Castillo Rivas, profesora de la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica.

Para la elaboración del trabajo de investigación se utilizó la aplicación Google Drive.

RESULTADOS

Detalle de la impresión

La distribución de los materiales según el detalle de impresión (ver tabla 4), mostró diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,001$). El filamento 88C presentó mejor comportamiento; esto puede afirmarse debido a que hubo mayor cantidad de estructuras impresas con un buen detalle de impresión; mientras que con el filamento de PLA puro, la mayoría de las impresiones tuvieron el detalle de impresión regular y en las impresiones del 90B, el detalle de impresión fue deficiente.

Tabla 4. Distribución de muestra según material por detalle de la impresión 2021

Material	Detalle de la impresión						Total	
	Deficiente		Regular		Bueno			
	#	%	#	%	#	%	#	%
88C	2	13,3%	1	6,7%	12	80,0%	15	100%
90B	16	51,6%	4	12,9%	11	35,5%	31	100%
PLA	0	0,0%	12	92,3%	1	7,7%	13	100%
Total	18	30,5%	17	28,8%	24	40,7%	59	100%

Al observar las impresiones del material 88C, en 80% de las mismas se observó el detalle de impresión excelente. Para obtener la muestra, del material 88C, se realizaron quince intentos de impresión, debido a que dos de las impresiones no se lograron completar.

Tabla 5. Observación de las estructuras impresas con el material 88C

88C	
Observación	Casos
Excelente	12
Exceso de material en un borde de la base	1
Incompleta 63%, debido a que el material se atasca en el engranaje que lo lleva al extrusor	1
Incompleta 80%, debido a que el material se atasca en el engranaje que lo lleva al extrusor	1

El material 90B presentó mayor variabilidad en las observaciones, en su mayoría debido a que la impresión no se completó al 100%.

Tabla 6. Observación de las estructuras impresas con el material 90B

90B	
Observación	Casos
Excelente	11
Incompleta, no se imprime tope superior	2
Muecas en tope superior	2
Impresión hasta 18%	1
Impresión hasta 53%	1
Se fracturó a la mitad cuando iba por 97%	1
Se imprimió en 11%	1
Se imprimió en 68%	1
Se imprimió solo 12%	2
Se imprimió solo 36%	1
Se imprimió solo 42%	1

Se imprimió solo 47%	1
Se imprimió 18%	1
Se imprimió 29 %	1
Se imprimió 30%	1
Se imprimió 37%	1
Se imprimió 40%	1
Se imprimió 46%	1

En el material PLA solo una muestra se consideró excelente, la mayor cantidad presentó zonas de material con cambio de color o con muescas.

Tabla 7. Observación de las estructuras impresas con el material PLA

PLA	
Observación	Casos
Muecas en tope superior	2
Base quebrada, zonas de material con cambio del color, tope superior con muesca	1
Excelente	1
Franjas y base con cambio del color	1
Muecas en tope superior y zonas de material con cambio del color	1
Muecas en tope superior, base quebrada	1
Se observa zonas de material con cambio de color, en la base	1
Se observan zonas como de material "decolorado"	1
Soporte superior con muescas	1
Soporte superior con pequeña muesca, zonas de material con cambio de color	1

Tope superior con muescas. Se observan zonas de materia con cambio de color	1
Zonas de material con cambio del color	1

El 86,7% del total de las impresiones del material 88C, se logró imprimir 100% en el primer intento, por lo tanto, se requirieron quince intentos para completar la muestra. Mientras que con el material 90B, el 58,1% de las estructuras no se logró imprimir al 100% en su primer intento; por lo cual, para completar la muestra se realizaron 31 intentos en total. Sin embargo, al utilizar el material PLA puro se obtuvo 100,0% de las impresiones en el primer intento.

Tabla 8. Muestras según material por porcentaje de logro 2021

Material	Impresión				Total	
	No logrado		Logrado			
	#	%	#	%	#	%
88C	2	13,3%	13	86,7%	15	100,0%
90B	18	58,1%	13	41,9%	31	100,0%
PLA	0	0,0%	13	100,0%	13	100,0%
Total	20	33,9%	39	66,1%	59	100,0%

Las estructuras de los materiales 88C y 90B, que lograron su impresión en 100%, fueron comparadas visualmente con el patrón de oro impreso en resina, y se observó que estas se asemejan parcialmente al mismo, sin embargo, las estructuras de las impresiones en PLA no se asemejan al patrón de oro.

Tabla 9. Resultados de la inspección y comparación visual con el patrón de oro

Material	Resultado inspección visual						Total	
	No se asemeja al patrón de oro		Se asemeja parcialmente al patrón de oro		Se asemeja bastante al patrón de oro			
	#	%	#	%	#	%	#	%
88C	0	0,0%	13	100,0%	0	0,0%	13	100,0%
90B	0	0,0%	13	100,0%	0	0,0%	13	100,0%
PLA	13	100,0%	0	0,0%	0	0,0%	13	100,0%
Total	13	33,3%	26	66,7%	0	0,0%	39	100,0%

Pruebas de resistencia compresiva y módulo de elasticidad

A continuación, se presentan los resultados de las pruebas mecánicas realizadas a las muestras. En estas se detalla la fuerza (N) utilizada para obtener la resistencia compresiva (MPa) y el módulo de elasticidad (MPa) de cada uno de los materiales utilizados. Se obtiene como resultado, que en las variables mencionadas anteriormente, el promedio del material PLA fue menor al del 90B, mientras que el material 88C obtuvo los valores más altos, obteniendo un promedio de fuerza de 1272,2308 N, una resistencia compresiva de 8,84692 MPa y un módulo de elasticidad de 43,23615 MPa.

Tabla 10. Resultados de las variables Fuerza (N), Resistencia compresiva (MPa) y Módulo de elasticidad (MPa), según muestra de material

Variabes	Grupo	Media	Desviación estándar	N
	88C	1272,2308	324,83230	13
	90B	463,7454	362,38107	13

Fuerza (N)	PLA puro	200,9923	71,32428	13
	Total	645,6562	538,20976	39
Resistencia compresiva (MPa)	88C	8,84692	2,412745	13
	90B	3,50477	2,739083	13
	PLA puro	1,44308	0,631524	13
	Total	4,59826	3,784662	39
Módulo de elasticidad (MPa)	88C	43,23615	39,573622	13
	90B	21,74569	13,045416	13
	PLA puro	4,21385	2,311495	13
	Total	23,06523	28,484038	39

El material que fue internamente más variable entre los tres, en los resultados de fuerza y resistencia compresiva, fue el 90B, mientras que el 88C lo fue en la variable del módulo de elasticidad.

Dado que no existe homogeneidad de varianzas entre los materiales ($p = 0,0001$), se procedió a utilizar la prueba de Jonckheere-Terpstra para probar la hipótesis de que los promedios de fuerza ($p = 0,009$) y resistencia compresiva ($p = 0,014$) presentan diferencia entre todos los grupos de filamentos, mientras que en el módulo de elasticidad no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,388$) entre los grupos.

Tabla 11. Resultados de la aplicación de la prueba de Jonckheere-Terpstra

	Fuerza (N)	Resistencia compresiva (MPa)	Módulo de elasticidad (MPa)
Material	3	3	3

N	39	39	39
Estadístico J-T observado	152,000	158,000	220,000
Estadístico J-T de media	253,500	253,500	253,500
Desviación estándar del estadístico JT	38,815	38,815	38,819
Estadístico J-T estándar	-2,615	-2,460	-0,863
Significancia asintótica (bilateral)	0,009	0,014	0,388

DISCUSIÓN

En lo que respecta a los resultados de las pruebas de impresión del filamento PLA, al ser un material puro, se obtuvo 100% de las impresiones en su primer intento. Sin embargo, la mayoría de las muestras sufrieron cambios de color en su estructura, reflejando zonas de un color marrón.

Con respecto al material 90B (compuesto de 95,2% de PLA y 4,8% frústulas de diatomeas), requirió la mayor cantidad de repeticiones de impresión de las estructuras, debido al atascamiento de dicho filamento en los extrusores de la impresora.

El filamento del material 88C (compuesto de 91% de PLA, 4,5% de frústulas de diatomea y 4,5% de fosfato de calcio), presentó un mejor comportamiento al imprimir las estructuras ya que, el 86,7% de las muestras lograron su impresión a 100% en su primer intento, y además, presentó los mejores resultados al realizar las pruebas mecánicas, obteniendo un promedio de fuerza de 1272,2308 N, una resistencia compresiva de 8,84692 MPa y un módulo de elasticidad de 43,23615 MPa. Estos resultados fueron los de mayor valor al compararlos con los otros dos materiales y cabe resaltar que los valores obtenidos con este material, coinciden con los rangos de las propiedades del hueso esponjoso reportados en la literatura, donde la resistencia compresiva está en un rango de 2-12 MPa y los valores conseguidos en el módulo de elasticidad se acercan al rango de 0,05-0,5 GPa, lo equivalente a 50-500 MPa. (5)

Al realizar la inspección visual de las impresiones y compararlas con el patrón de oro fabricado en resina (técnica con mejor resolución), se pudo observar que 100% de las estructuras impresas con los filamentos 88C y 90B, se asemejan parcialmente al patrón de oro; mientras que las estructuras de PLA no se asemejan del todo a este.

Respecto a la hipótesis nula planteada, esta se debe rechazar parcialmente, debido a que sí se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,001$) en las propiedades de

impresión del biomaterial 88C, con respecto al 90B y al PLA puro. Debido a composición a base de PLA, frústulas de diatomeas y fosfato de calcio, el filamento 88C presenta las mejores características de impresión 3D utilizando la técnica de impresión por deposición fundida, a partir de modelos estereolitográficos obtenidos con Micro-CT Scan. Además, el biomaterial 88C, fue también el que presentó las mejores propiedades mecánicas en comparación con los otros grupos de materiales. Aunque la diferencia entre estos no fue estadísticamente significativa ($p= 0,388$), en las estructuras del biomaterial 88C, se pudieron observar valores semejantes a los del hueso esponjoso, por lo que se convirtió en un material con potencial para ser utilizado en la fabricación de bioandamiajes en la ingeniería tisular.

Como se mencionó anteriormente, cada uno de los filamentos de impresión utilizados fueron confeccionados manualmente, ya que, el proyecto de investigación busca el desarrollo de un biopolímero para la fabricación de bioandamiajes lo que genera un difícil control sobre el diámetro de estos.

Los filamentos Prusament, utilizados en la impresora 3D Original Prusa 3i para este estudio son fabricados con un diámetro, homogéneo y consistente de aproximadamente 1,75 mm (tolerancia de ± 0.002). Según Cardona et al. (2016), el diámetro de filamento inconsistente, puede causar complicaciones graves durante la extrusión, pero sigue siendo discutible si pequeñas desviaciones en el diámetro pueden afectar el resultado de la impresión. (32) Lo anterior se observa en las impresiones del filamento 90B, en el cual se tuvo 58,1% de impresiones fallidas.

El filamento del material 88C presentó un mejor comportamiento al imprimir estructuras, esto puede deberse a su composición: PLA, diatomeas y fosfato de calcio; este último componente es un material cerámico, que se ha incorporado a diferentes bioandamiajes para mejorar sus propiedades mecánicas, esto se evidencia en los valores obtenidos en la resistencia compresiva, la cual es la propiedad mecánica más comúnmente probada para andamios de cerámica. (31) El fosfato de calcio y la apatita ósea (fase mineral del tejido

óseo) poseen similitud entre sí, tanto en su estructura cristalina como en su estructura química. Aparte de mejorar las características mecánicas del andamiaje, cuenta con propiedades osteoconductoras (tiene la capacidad de atrapar y concentrar los factores de crecimiento para la diferenciación de células madre), osteogénicas (gracias a la interconectividad por su red porosa), y de osteointegración (permite un enlace químico entre el hueso y la superficie del andamio). (31)

También, al añadir frústulas de diatomeas a un material como el PLA se obtiene una nanoestructura (compuesta de sílice) en el bioandamiaje impreso, lo anterior es posible utilizando un equipo de impresión 3D no muy especializado y de bajo costo. Dicha estructura generaría un ambiente propicio para la interacción con las células del medio (osteactividad), ya que tiene un gran potencial para la osteoinducción y osteoregeneración, debido a que el sílice juega un rol fundamental en la formación de hueso en el cuerpo, en el funcionamiento de osteoblastos y en la inducción del proceso de mineralización. (8, 14). Esto se puede comprobar con investigaciones en desarrollo o futuras, en las cuales se busque beneficiar a personas que presenten algún defecto óseo (como la población con labio paladar hendido), y también darles la oportunidad de tener un tratamiento menos invasivo en los procesos de regeneración ósea.

Este estudio es un punto de referencia para desarrollar investigaciones enfocadas en la ingeniería tisular aplicada a la regeneración del tejido en defectos óseos, como por ejemplo los pacientes con labio paladar hendido, debido a que actualmente existen muy pocos estudios en la literatura sobre esta condición, aunque es una de las anomalías craneofaciales hereditarias más comunes en los seres humanos. (30) De esta manera se podría utilizar la impresión 3D de un bioandamiaje con óptimas características mecánicas, que pueda sustituir el tejido óseo faltante en estos pacientes. Gracias a este estudio es posible observar el comportamiento de un nuevo biomaterial que podría ser utilizado en el campo de la ingeniería tisular para la regeneración ósea a futuro, el cual se compone de materiales de

bajo costo como el extracto de diatomea, el fosfato de calcio y el PLA. Además, de confirmar que al utilizar una técnica de impresión 3D accesible y de bajo costo, se puede lograr la creación de un bioandamiaje con buenas características de impresión. Por último, las pruebas mecánicas realizadas a las estructuras impresas con el filamento 88C arrojan cifras similares a la resistencia compresiva y al módulo de elasticidad que posee el hueso esponjoso de los maxilares, por lo que se propone que este bioandamiaje pueda llegar a ser utilizado en la regeneración de defectos óseos en este sitio.

La principal debilidad de esta investigación surge a raíz de la confección y extrusión de los filamentos utilizados para lograr la impresión de los bioandamiajes. Debido a que la impresora Original Prusa 3i utilizada requiere de un filamento de impresión que posea un diámetro de $1,75 \pm 0,15$ mm (19), los materiales debían ser extruídos con sumo cuidado para poder mantener un diámetro lo más homogéneo posible. Al ser filamentos obtenidos de un proceso de extrusión manual y no filamentos extruidos industrialmente no fue posible lograr un diámetro 100% regular en toda su extensión. Lo anterior no fue problema al insertar el filamento en el extrusor de la impresora, pero sí durante el proceso de impresión, ya que provocaba que el material se quedara atascado dentro del extrusor y la impresión se detuviera. Es importante mencionar que al ser un material en investigación, el conocer sus propiedades de impresión y cómo se comportaba el filamento era parte del proceso. Por otro lado, este estudio puede enriquecerse al realizar una mayor cantidad de pruebas mecánicas a los bioandamiajes para ver su comportamiento *in vitro*, para lo cual se requieren distintos equipos. Además, una de las mayores limitantes fue tener a disposición una sola impresora marca Original Prusa 3i, el poder asistir al laboratorio de impresión solamente una vez a la semana y el atraso del proyecto debido a las medidas sanitarias nacionales tomadas por la situación de la COVID-19 en el país.

La presente investigación se pudo llevar a cabo gracias al trabajo colaborativo de diferentes instituciones, entre ellas el Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología, el cual

brindó las frústulas de diatomeas para la fabricación de los filamentos a base de PLA. También, se recibió ayuda del Laboratorio Nacional de Nanotecnología para la confección y extrusión de los filamentos de impresión y del Laboratorio de Fabricación (Fab Lab) Kā Träre de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Estatal a Distancia, el cual facilitó el uso de su equipo de impresión 3D y el apoyo de sus especialistas para esos procesos y los relacionados con la elaboración del documento final del proyecto. Finalmente, se contó con la ayuda del Laboratorio de Materiales de la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica para la realización de las pruebas mecánicas a los bioandamiajes. Se recalca también la ayuda brindada por parte de la estudiante Laura Rojas Rojas al compartir los archivos STL derivados del Micro-CT Scan que forman parte de su investigación para obtener el grado de doctorado.

Por último, tomando en cuenta que a pesar de que los bioandamiajes del grupo 88C dieron los mejores resultados de impresión y pruebas mecánicas, se espera que en algún momento se estandarice los procesos de manufactura de dicho filamento, para así tener más control del grosor y otras variables, como por ejemplo el diámetro, la consistencia y las propiedades mecánicas que puedan afectar el proceso de fabricación del filamento. Además, se deben realizar diversos estudios con respecto a la biocompatibilidad celular, biodegradabilidad y los distintos procesos por llevar a cabo antes de realizar pruebas *in vivo*. Posteriormente, realizar estudios para analizar el comportamiento del bioandamiaje en el paciente receptor del injerto y determinar si la velocidad de degradación es la adecuada, así como lograr el menor porcentaje posible de complicaciones postoperatorias como infecciones, necrosis y rechazo del injerto.

CONCLUSIÓN

El biomaterial con las mejores características de impresión y propiedades mecánicas, para elaborar un bioandamiaje mediante impresión 3D utilizando la técnica de deposición fundida a partir de modelos estereolitográficos derivados de un Micro-CT Scan fue el filamento 88C. La combinación de PLA, fosfato de calcio y frústulas de diatomea no solo le brinda propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad, sino que también le proporciona una mejor resistencia compresiva al andamiaje, y por eso puede decirse que presentó un comportamiento mecánico semejante al hueso esponjoso de los maxilares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Chaudhari AA, Vig K, Baganizi DR, Sahu R, Dixit S, Dennis V, et al. Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review. *Int J Mol Sci*. 2016 Nov 25;17(12):1974.
- (2) Chocholata P, Kulda V, Babuska V. Fabrication of scaffolds for bone-tissue regeneration. *Materials (Basel)*. 2019 Feb 14;12(4):568.
- (3) Murphy W, Black J, Hastings G. *Handbook of biomaterial properties*. 2nd ed. New York: Springer; 2016.
- (4) Bose S, Vahabzadeh S, Bandyopadhyay A. Bone tissue engineering using 3D printing. *Mater Today (Kidlington)*. 2013 Dec 01; 16(12):496–504.
- (5) Hutmacher DW, Schantz JT, Lam CXF, Tan KC, Lim TC. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007 Jul-Aug;1(4):245–260.
- (6) Gutiérrez-Prieto SJ, Fonseca LF, Sequeda-Castañeda LG, Díaz KJ, Castañeda LY, Leyva-Rojas JA, et al. Elaboration and biocompatibility of an eggshell-derived hydroxyapatite material modified with Si/PLGA for bone regeneration in dentistry. *Int J Dent*. 2019 Dec 05;1–12.
- (7) Amoda A, Borkiewicz L, Rivero-Müller A, Alam P. Sintered nanoporous biosilica diatom frustules as high efficiency cell-growth and bone-mineralisation platforms. *Mater Today Commun*. 2020 Sep; 24.
- (8) Serra T, Mateos-Timoneda MA, Planell JA, Navarro M. 3D printed PLA-based scaffolds: a versatile tool in regenerative medicine: A versatile tool in regenerative medicine. *Organogenesis*. 2013 Aug 19; 239–244.
- (9) Rodrigues N, Benning M, Ferreira AM, Dixon L, Dalgarno K. Manufacture and characterisation of porous PLA scaffolds. *Procedia CIRP*. 2016 Aug 26;49:33–8.

- (10) Channasanon S, Udomkusonsri P, Chantaweroad S, Tesavibul P, Tanodekaew S. Gentamicin released from porous scaffolds fabricated by stereolithography. *J Healthc Eng*. 2017 Aug 20:1–8.
- (11) Ghassemi T, Shahroodi A, Ebrahimzadeh MH, Mousavian A, Movaffagh J, Moradi A. Current concepts in scaffolding for bone tissue engineering. *Arch Bone Jt Surg*. 2018 Mar; 6(2):90–9.
- (12) Fillingham Y, Jacobs J. Bone grafts and their substitutes. *The Bone & Joint Journal*. 2016; 98-B (1 Suppl A): 6–9.
- (13) Orhan K. *Micro-computed Tomography (micro-CT) in Medicine and Engineering*. 1st ed. New York: Springer; 2020.
- (14) Maher S, Kumeria T, Aw MS, Losic D, Martín-del-Campo M, Rosales-Ibañez R, et al. Diatom Silica for Biomedical Applications: Recent Progress and Advances. *Advanced Healthcare Materials*. 2018 Aug 17:1-19.
- (15) Martín-del-Campo M, Rosales-Ibañez R, Rojo L. Biomaterials for Cleft Lip and Palate Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019 May 02; 20(9):2176
- (16) Baptista R, Guedes M, Pereira MFC, Mauricio A, Carrelom H, Cidade T. On the effect of design and fabrication parameters on mechanical performance of 3D printed PLA scaffolds. *Elselvier*. 2020 Dec 01; 20:1-16.
- (17) César-Juárez A, Olivos-Meza A, Landa-Solís C, Cárdenas-Soria V, Silva-Bermúdez P, Suárez-Ahedo C et al. Uso y aplicación de la tecnología de impresión y bioimpresión 3D en medicina. *Rev. Fac. Med. (Méx.)*. 2018 Dic; 61(6): 43-51.
- (18) Al-Dulimi Z, Wallis M, Tan DK, Maniruzzaman M, Nokhodchi A. 3D printing technology as innovative solutions for biomedical applications. *Drug Discov Today*. 2021 Feb; 26(2):360–83.

- (19) Chacón JM, Caminero MA, García-Plaza E, Núñez PJ. Additive manufacturing of PLA structures using fused deposition modelling: Effect of process parameters on mechanical properties and their optimal selection. *Mater Des.* 2017 Jun 15; 124:143–57.
- (20) Bakhtiar SM, Butt HA, Zeb S, Quddusi DM, Gul S, Dilshad E. 3D Printing Technologies and Their Applications in Biomedical Science. En: *Omics Technologies and Bio-Engineering.* Elsevier; 2018. p. 167–189.
- (21) Zhang L, Yang G, Johnson BN, Jia X. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta Biomater.* 2019 Jan 15; 84:16–33.
- (22) Colín-García M, Heredia A, Dos Santos-Rodríguez C, Figueira E, Almeida S, Basiuk V, Rodríguez-Galván A, Vrieling E. SÍLICE DE LAS ALGAS DIATOMEAS (CLASE Bacillariophyceae) COMO MATERIAL COMPLEJO Y SU IMPORTANCIA NANOTECNOLÓGICA. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida.* 2013 Jun;17(1):5-15.
- (23) Landis E, T. Keane D. X-ray microtomography. Elsevier. 2010 Dec; 61: 1305-1316.
- (24) L. Vásárhelyi Z, Kónya Á, Kukovecz E, Vajtai. Microcomputed tomography–based characterization of advanced materials: a review. Elsevier. 2020 Dec; 8: 1-11.
- (25) Morgan EF, Unnikrisnan GU, Hussein AI. Bone Mechanical Properties in Healthy and Diseased States. *Annual Review of Biomedical Engineering.* 2018 Jun; 20(1), 119–143.
- (26) Amini M, Reisinger A, Pahr DH. Influence of processing parameters on mechanical properties of a 3D–printed trabecular bone microstructure. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.* 2019 Mar 20; 108(1): 38–47.

- (27) OED. 2021 et. Oxford English Dictionary. United States. OXFORD University Press; 2021.
- (28) Gibson I, Rosen D, Mahyar K. Additive Manufacturing technologies. 3rd ed. Atlanta: Springer; 2020
- (29) Boerckel JD, Mason DE, McDermott AM, Alsberg E. Microcomputed tomography: approaches and applications in bioengineering. *Stem Cell Research & Therapy*. 2014 Dec 29; 5(6):144.
- (30) La historia detrás de Prusament [Internet]. Prusament. 2021 [citado 26 octubre 2021]. Disponible en: <https://prusament.com/es/la-historia-detras-de-prusament/>
- (31) Denry I, Kuhn LT. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Dental Materials*. 2016 Jan;32(1):43–53.
- (32) Cardona C, Curdes A, Isaacs A. Effects of filament diameter tolerances in fused filament fabrication. *IU. J. Undergrad*. 2016 May 31; 2(1): 44–47.
- (33) Rawson S, Maksimcuka J, Withers P. X-ray computed tomography in life sciences. *BMC Biology*. 2020 Feb 27;18 (21): 1-12.

ANEXOS

ANEXO 1

Modificación de protocolo, paso a paso, utilizado para la impresión de modelos estereolitográficos a partir de archivos STL provenientes de un Micro-CT Scan.

Impresión del archivo STL

1. Definición de los parámetros de impresión de las estructuras en el programa PRUSA Control.
 - Escala de impresión: 150%
 - Temperatura de impresión: 195°C
 - Grosor de capa: 0,1 mm
 - Densidad de relleno: 100%
 - Patrón de relleno: rectilíneo
 - Material de soporte: soporte generado automáticamente
 - Velocidad de impresión de perímetros: 45 mm/s
 - Velocidad de impresión de relleno: 80 mm/s
 - Extrusores: 1
 - Tipo de base de impresión: brim
 - Posición: vertical
2. Pasar el archivo STL por medio de una tarjeta Micro SD al puerto SD de la impresora de deposición fundida, marca Original Prusa i3.
3. En la esquina superior izquierda seleccionar el botón de “Load” y abrir el archivo STL limpio que previamente se exportó del *software* Meshmixer.
4. Colocación del filamento del material a utilizar dentro del extrusor de la impresora

5. Seleccionar la opción “Print from SD” (la impresión de las estructuras está dada 150% del tamaño original).
6. Seleccionar archivo STL y presionar “Enter”.
7. Esperar a que la cama de la impresora se caliente y el filamento se empiece a extruir.
8. Una vez terminada la impresión de la estructura, removerla de la base de la impresora utilizando una espátula metálica, con el debido cuidado para evitar dañarla.
9. Colocar la estructura en un recipiente sellado al vacío para evitar cambios en el estado del material.

ANEXO 2

Protocolo de impresión del patrón de resina

a) Colocación de material en la impresora FormLabs

1. Colocar el cartucho de material resinoso White V4 dentro de la impresora.
2. Colocar el tanque en donde la resina se vierte.

b) Proceso de impresión

1. Pasar el archivo STL al software PreForm.
2. Se pasa el archivo por medio de red WiFi a la impresora en donde se carga el archivo.
3. Se prepara el archivo para la impresión:
 - Se selecciona el archivo.
 - Se verifican dos cosas: que el tanque esté lleno de resina y abrir la tapa del cartucho para que entre el aire.
 - Se toca la opción Empezar impresión.
4. Se retira la estructura de la máquina y se procede a eliminar la estructura de soporte de la impresión.

c) Curado de estructura

1. Se coloca la estructura por 20 minutos en la máquina de curado FormLabs con alcohol isopropílico.
2. Se retira la estructura.

d) Solidificación de la estructura

1. Se coloca en el horno FormLabs a 60°C por 20 minutos.
2. Se retira la estructura del horno.

ANEXO 3

Protocolo para la manufactura de filamentos para impresión por deposición fundida

Para la impresión de la estructura ósea, se manufacturaron tres tipos de filamentos a base de PLA, descritos en la siguiente tabla:

Tabla 12. Composición de filamentos utilizados para la impresión de bioandamiajes

Materiales		Composición (g)
PLA	PLA Puro	20PLA
90B	SPB-III-90B	20PLA/0CP/1DE
80C	SPB-III-88C	20PLA/1CP/1DE

a) Elaboración de filamento PLA Puro

1. Colocar 20 g de ácido poliláctico en un *beaker* o vaso de precipitado.
2. Colocar 500 ml de cloroformo.
3. Colocar el *beaker* sobre una plantilla eléctrica a una temperatura aproximada de 120°C, con pastillas de agitación, durante 5 horas.
4. Verter el contenido en un *pyrex* de vidrio o similar, y cubrirlo con papel aluminio.
5. Dejar en reposo al menos 24 horas.
6. Una vez transcurrido este tiempo, desprender el material del recipiente.
7. Cortar el material en fragmentos sumamente pequeños, de aproximadamente 2 mm x 2 mm.
8. Introducir los fragmentos en la extrusora de filamento, Filabot EX2.
9. Se debe de ir alineando el material que va saliendo de la extrusora, ajustando la velocidad de salida y la velocidad de la carrucha del final en donde se va enrollando el filamento.

10. Conforme se va extruyendo el material, se debe ir agregando más cantidad de fragmentos del material a la máquina, hasta obtener la cantidad de filamento requerida.

b) Elaboración de filamento SPB-III-90B

1. Colocar 20 g de ácido poliláctico en un *beaker*.
2. Agregar 1 g de extracto de diatomea.
3. Colocar 500 ml de cloroformo.
4. Repetir pasos 3-10, descritos en el proceso anterior.

c) Elaboración de filamento SPB-III-88C

1. Colocar 20 g de ácido poliláctico en un *beaker*.
2. Agregar 1 g de extracto de diatomea + 1 g de fosfato de calcio.
3. Colocar 500 ml de cloroformo.
4. Repetir pasos 3-10, descritos en la primera elaboración.

Fotografías del protocolo abierto para la manufactura de filamentos para impresión por deposición fundida

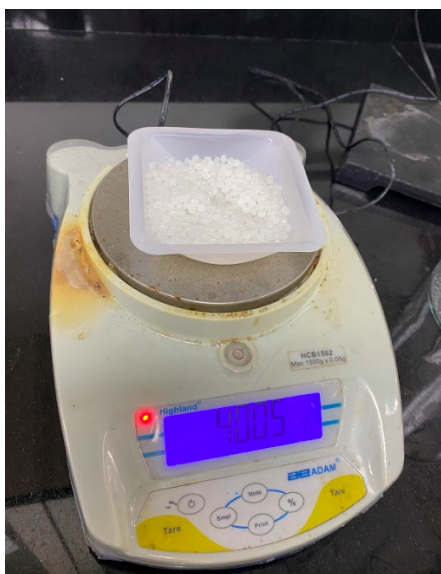


Figura 2. Pesaje de PLA puro



Figura 3. Pesaje de extracto de diatomea

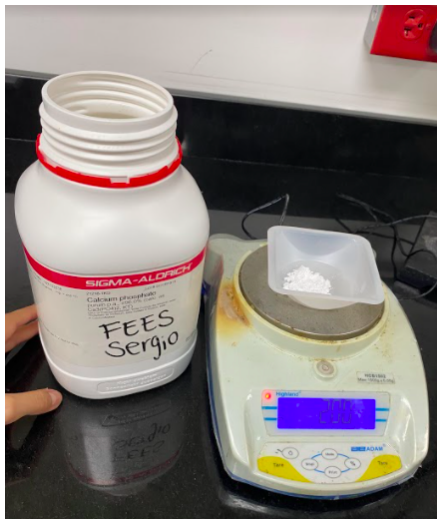


Figura 4. Pesaje de Fosfato de calcio

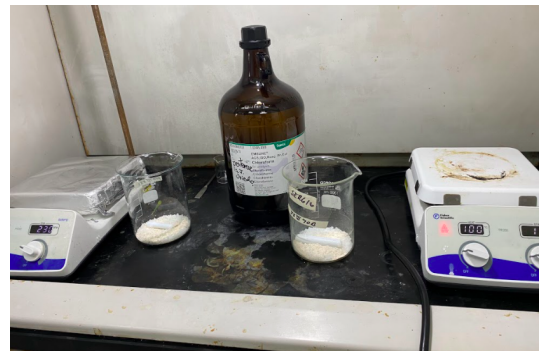


Figura 5. Previo a proceso de agitación



Figura 6. Post proceso de agitación



Figura 7. Mezcla de filamento en reposo



Figura 8. Cortes horizontales de la mezcla de filamento.



Figura 9. Recorte del material en de fragmentos



Figura 10. Extrusión de filamento.

ANEXO 4

Fotografías de inspección visual de las estructuras en comparación al patrón de resina



Figura 11. Estructuras impresas del filamento 88C



Figura 12. Estructuras impresas del filament 90B



Figura 13. Patrón oro de resina
puro



Figura 14. Estructuras impresas en PLA



Figura 15. Imagen del microscopio del patrón oro de resina



Figura 16. Imagen de microscopio de estructura de PLA puro



Figura 17. Imagen de microscopio de estructura del filamento 88C



Figura 18. Imagen de microscopio de estructura del filamento 90B

ANEXO 5

Protocolo para la realización de pruebas mecánicas de bioandamiajes impresos

1. Colocar cada estructura en la máquina de ensayo universal marca Instron modelo Electro Plus E3000.
2. Presionar la opción de “Start” del *software* Blue Hill Universal el cual determina las mediciones previamente seleccionadas.
3. Presionar la opción “Stop” al llegar a los 13 mm de distancia (distancia determinada por la máquina como medida segura ya que la estructura mide en total 19 mm, esto para impedir que la máquina siga comprimiendo y choque en sus dos extremos).
4. Retirar la estructura y colocar una nueva.

Fotografías del proceso de realización de pruebas mecánicas de los bioandamiajes impresos



Figura 19. Máquina de ensayo universal Instron



Figura 20. Componentes de la máquina de ensayo universal



Figura 21. Prueba mecánica a bioandamiaje

ANEXO 6

Bitácora: Cronograma de actividades realizadas en el proyecto final de graduación.

Tabla 13: Bitácora de actividades del proyecto final de graduación.

Fecha	Actividad	Ubicación	Participantes
22 abril 2021	Inducción de proyecto por parte del Dr. Oviedo.	Vía Zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Dr. Jorge Oviedo
11 mayo 2021	Presentación de avance del trabajo (antecedentes) por Nicole Jensen	Vía Zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen Dr. Jorge Oviedo
19 mayo 2021	Reunión con el Dr. Fabián Murillo el cual nos ayudará a realizar las pruebas mecánicas de los bioandamiajes.	Vía Zoom	Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Dr. Jorge Oviedo Dr. Fabián Murillo
20 mayo 2021	El Dr. Oviedo realiza presentación de los profesores (Diana Hernández y Esteban Campos) Exposición de artículos por parte de las compañeras.	Vía Zoom	Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Dr. Jorge Oviedo Esteban Campos Diana Hernández
27 mayo 2021	Diana nos explica todo acerca del formato y contenido del trabajo.	Vía Zoom	Natalia González

	Evacuamos dudas del objetivo de la investigación		Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Dr. Jorge Oviedo Diana Hernández
28 mayo 2021	Corrección de la justificación, planteamiento del problema y objetivos de la investigación	Vía Zoom y Google Drive	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez
3 de junio 2021	Reunión con Esteban Campos. Introducción a la impresión 3D	Vía Zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Esteban Campos
3 de junio 2021	Reunión con el Dr Murillo para evaluar pieza para la máquina de las pruebas mecánicas	Laboratorio de Materiales, Facultad de Odontología	Nicole Jensen Dr. Fabián Murillo
8 de junio 2021	Discusión y explicación de nuevo formato del proyecto de graduación	Vía Zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Dr. Jorge Oviedo
9 de junio 2021	Reunión con Sergio para explicación del rol del LANOTEC en el proyecto	Vía Zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez

			Sergio Paniagua
10 de junio 2021	Prueba de pieza metálica fabricada en el Laboratorio de Materiales con el Dr. Murillo	Laboratorio de Materiales, Facultad de Odontología	Natalia González Dr. Fabián Murillo
10 de junio 2021	Reunión con Esteban Campos. Introducción a la impresión 3D e impresión de primeras figuras	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez Esteban Campos
17 de junio 2021	Reunión con la Master Jackeline Castillo.	Vía zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Dr. Jorge Oviedo
1 de julio 2021	Reunión con Esteban Campos. Utilización de scanner	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez Esteban Campos Farith Tabash
8 de julio 2021	Reunión con Dr. Oviedo Discusión sobre progreso de proyecto	Facultad de Odontología	Natalia González Nicole Jensen
8 de julio 2021	Reunión con Esteban Utilización de scanner Campos.	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González María Fernanda Velásquez Esteban Campos Farith Tabash
9 de julio 2021	Reunión con la Master Jackeline Castillo.	Vía zoom	Natalia González

	Discusión de la muestra		Nicole Jensen Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez
14 de julio de 2021	Reunión con Esteban Campos. Utilización de scanner	Fab Lab Kátrare, UNED	Alejandra Hidalgo Nicole Jensen Esteban Campos Farith Tabash
16 de julio de 2021	Reunión con Dr. Oviedo.	Facultad de Odontología, UCR	Natalia González Nicole Jensen Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez
22 de julio de 2021	Reunión con Carolina Centeno	Vía zoom	Natalia González Nicole Jensen Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez Carolina Centeno
29 de julio de 2021	Trabajo de laboratorio: confección de las composiciones y se dejan en reposo	CENAT: Lanotec	Natalia González Nicole Jensen Sergio Paniagua
30 de julio de 2021	Trabajo de laboratorio: recorte de películas 80C, 90 B, extrusión de filamentos.	CENAT: Lanotec	Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Sergio Paniagua
04 de agosto de 2021	Reunión con Laura Rojas. Consulta sobre metodología.	Via zoom	Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen María Fernanda Velásquez Laura Rojas Rojas

08 de agosto de 2021	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez Farith Tabash
04 de agosto de 2021	Reunión sobre la metodología utilizada para la micro tomografía brindada	Via zoom	Natalia González Nicole Jensen Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez Laura Rojas Rojas
08 de agosto de 2021	Reunión con Dr. Oviedo.	Via zoom	Natalia González Nicole Jensen Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez
13 de agosto de 2021	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González María Fernanda Velásquez Esteban Campos Farith Tabash
17 de agosto de 2021	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Alejandra Hidalgo Natalia González Farith Tabash Esteban Campos
19 de agosto de 2021	Pruebas mecánicas de estructuras impresas	Facultad de Odontología, Laboratorio de Materiales	Natalia González Dr. Fabián Murillo
31 de agosto del 2021	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González Farith Tabash Esteban Campos
3 de	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre,	Alejandra

septiembre del 2021		UNED	Hidalgo María Fernanda Velásquez Farith Tabash Esteban Campos
6 de septiembre del 2021	Reunión con colaboradores de proyecto	Via Zoom	Leonardo Lesser Laura Rojas Jorge Oviedo Teodolito Nicole Jensen Natalia González Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez
9 de septiembre del 2021	Tabulación de resultados	Via Zoom	Nicole Jensen Natalia González Msc. Castillo María Fernanda Velásquez
10 de septiembre del 2021	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátrare, UNED	Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez Farith Tabash Esteban Campos
13 de septiembre del 2021	Creación de la metodología del trabajo de investigación y correcciones de los capítulos del marco teórico	Reunión presencial	Nicole Jensen Natalia González
14 de Septiembre	Creación de la introducción	Reunión presencial Facultad de odontología	Alejandra Hidalgo María Fernanda Velásquez
16 de septiembre del 2021	Pruebas mecánicas de andamiajes	Laboratorio de Materiales , Facultad de Odontología	Dr. Fabián Murillo Natalia González
16 de septiembre	Discusión correcciones de metodología	Facultad de Odontología	Natalia González

del 2021			Dr. Jorge Oviedo
16 de septiembre del 2021	Correcciones de la metodología	Vía Zoom	Nicole Jensen Natalia González
17 de septiembre del 2021	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González Alejandra Hidalgo Díaz Farith Tabash Esteban Campos
21 de septiembre del 2021	Toma de fotografías de andamiajes en microscopio	Facultad de Odontología	Natalia González Dr. Fabián Murillo
22 de Septiembre	Corrección de introducción.	Facultad de Odontología	Alejandra Hidalgo Díaz Maria Fernanda Velazquez
24 de septiembre	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Nicole Jensen Farith Tabash Esteban Campos
30 de septiembre	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Natalia González Farith Tabash
1 de octubre	Impresión 3D de andamiajes	Fab Lab Kátráre, UNED	Alejandra Hidalgo Díaz Maria Fernanda Velazquez Farith Tabash Esteban Campos
7 de octubre	Pruebas mecánicas de andamiajes	Facultad de Odontología	Natalia Gonzalez Dr. Fabián Murillo
21 de octubre	Pruebas mecánicas de andamiajes	Facultad de Odontología	Alejandra Hidalgo Dr. Fabián Murillo
28 de octubre	Reunión para discutir la	Via zoom	Dr. Jorge

	metodología de investigación.		Oviedo Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen Maria Fernanda Velazquez
11 de noviembre.	Reunión para la discusión de resultados	Facultad de Odontología	Dr. Jorge Oviedo Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen Maria Fernanda Velazquez
24 de noviembre	Limpieza y pulido del maxilar impreso en 3D.	Fab Lab Kátráre, UNED	Maria Fernanda Velazquez Farith Tabash
2 de diciembre	Contenido del banner.	Facultad de Odontología	Dr. Jorge Oviedo. Alejandra Hidalgo
3 de diciembre	Contenido del banner.	Facultad de Odontología	Dr. Jorge Oviedo Maria Fernanda Velazquez
4 y 5 de diciembre	Impresión y coordinación de banner		Dr. Jorge Oviedo Natalia González Alejandra Hidalgo Nicole Jensen Maria Fernanda Velazquez
6 de diciembre.	Montaje de la exhibición del banner en el pasillo de la facultad.	Facultad de Odontología	Natalia González